F 1330

KAT

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

2
ANUL III
1960

studii și cercetări de biochimie

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

MŰSZAKI KÖNYVTÁR ORSZÁGOS 1883

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

2

ANUL III

1960

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI, *redactor responsabil*; ACADEMICIAN R. VLĂDESCU; D. ISĂCESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; M. MEZINCESCU; H. SLUȘANSCHI, *redactor adjunct*; I. VASILESCU; V. ALEXANDRESCU, *secretar tehnic de redacție.*

REVISTA STUDII ȘI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

APARE DE 4 ORI PE AN

Redacția: BUCUREȘTI, str. Popovici nr. 20
Telefon 17.63.04 — 17.79.63.

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul III, nr. 2 1960

SUMAR

Pag.

EUGENIA SORU, MARIA ISTRATI, D. TĂNĂSESCU şi S. COMOROŞAN, Contribuţii la studiul chimic şi imunochimic al stafilocoagulazei 117

S. OERIU, G. COSTESCU, O. TEODORESCU şi M. A. DIMITRIU, Biochimia creierului. XII. Studiul corelaţiei dintre acidul lactic şi acidul piruvic din scoarţa cerebrală a şobolanilor în stare de excitaţie şi inhibiţie medicamentoasă 125

SIMION OERIU, Cercetări asupra unor căi de inhibare a dezvoltării rezistenţei microbiene 131

L. M. BURUIANĂ şi E. HADARAG, Studiul dreptelor Arrhenius în cazul fosfomonoesterazei eritrocitare 141

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ şi M. SPIRIDON, Influenţa iradierii locale a şobolanilor asupra conţinutului în acizi nucleici din ţesuturile neiradiate 149

A. POPESCU-ŞTEFĂNESCU, E. SEREDIUC, C. BĂLAN şi M. D. MEZINCESCU, Evaluarea stării de nutriţie piridoxinică 157

VICTORIA ALEXANDRESCU, Aspecte ale biochimismului seminţelor de grîu, porumb şi bumbac, stimulate cu bromură de potasiu, hidrochinonă şi acid glutamic 171

VICTOR GHEŢIE şi LUCIA BUZILĂ, Blocarea reacţiei de brunificare în vederea cercetării proteinelor din sucul celular al frunzei 181

LYDIA VAICUM, Cercetarea unor uleiuri vegetale cu ajutorul fenomenului de tulburare spontană a soluţiilor lor acetice-toluenice în contact cu apa . 193

NOTĂ DE LABORATOR

ODETTE ZAHARIA, Influenţa acidului ribonucleic asupra acumulării substanţelor proteice în plante 201

REFERAT DE ANSAMBLU

V. EŞANU, Bazele biochimice ale imunităţii plantelor în lumina celei de-a III-a consfătuiri unionale de imunitate a plantelor (U.R.S.S., 1959) 205

RECENZII 211

CRONICA BIOCHIMIEI DIN R.P.R. 223

DIN ISTORIA BIOCHIMIEI ÎN R.P.R. 231

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE
INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome III, nº 2 1960

SOMMAIRE

Page

EUGENIA SORU, MARIA ISTRATI, D. TĂNĂSESCU et S. COMOROȘAN, Contribution à l'étude chimique et immunochimique de la staphylocoagulase 117

S. OERIU, G. COSTESCU, O. TEODORESCU et M. A. DIMITRIU, La biochimie du cerveau. XII. Études sur la corrélation entre l'acide lactique et l'acide pyruvique de l'écorce cérébrale du Rat à l'état d'excitation et d'inhibition médicamenteuse 125

SIMION OERIU, Recherches sur quelques voies d'inhibition du développement de la résistance microbienne 131

L. M. BURUIANĂ et E. HADARAG, Étude des droites d'Arrhenius pour la phosphomono-estérase érythrocytaire 141

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ et M. SPIRIDON, L'influence des irradiations locales sur la teneur en acides nucléiques des tissus non irradiés, chez le Rat 149

A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, E. SEREDIUC, C. BĂLAN et M. D. MEZINCESCU, Évaluation de l'état de saturation pyridoxiniqne 157

VICTORIA ALEXANDRESCU, Aspects du biochimisme des graines de blé, de maïs et de cotonnier, stimulées au bromure de potassium, à l'hydroquinone et à l'acide glutamique 171

VICTOR GHEȚIE et LUCIA BUZILĂ, Blocage de la réaction de brunissement en vue de l'étude des protéines du suc cellulaire de la feuille 181

LYDIA VAICUM, Étude de certaines huiles végétales à l'aide du phénomène de turbidité spontanée de leurs solutions acéto-toluéniques au contact de l'eau 193

NOTE DE LABORATOIRE

ODETTE ZAHARIA, L'action de l'acide ribonucléique sur l'accumulation des substances protéiques dans les plantes 201

RAPPORT D'ENSEMBLE

V. EȘANU, Les bases biochimiques de l'immunité des plantes sous l'angle de la III^e^ Conférence unionale d'immunité des plantes (U.R.S.S., 1959) . . 205

COMPTES RENDUS 211

CHRONIQUE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R. P. ROUMAINE . 223

DE L'HISTOIRE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R. P. ROUMAINE 231

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ

Том III, №, 2 1960

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

ЭУДЖЕНИЯ СОРУ, МАРИЯ ИСТРАТИ, Д. ТЭНЭСЕСКУ и С. КОМОРОШАН, К вопросу о химическом и иммунохимическом изучении стафилокоагулазы 117

С. ОЕРИУ, Г. КОСТЕСКУ, О. ТЕОДОРЕСКУ и М. А. ДИМИТРИУ, Биохимия мозга. XII. Исследование корреляции между молочной и пировиноградной кислотами в коре головного мозга крыс при возбуждении и торможении нервной деятельности 125

СИМИОН ОЕРИУ, К изучению некоторых путей торможения развития бактериальной резистентности 131

Л. М. БУРУЯНЭ и Е. ХАДАРАГ, Исследование прямых Аррениуса в случае эритроцитной фосфомоноэстеразы 141

О. КОСТЭКЕЛ, М. ФУРНИКЭ и М. СПИРИДОН, Влияние местного облучения крыс на содержание нуклеиновых кислот в необлученных тканях 149

А. ПОПЕСКУ-ШТЕФЭНЕСКУ, Е. СЕРЕДЮК, К. БЭЛАН и М. Д. МЕЗИНЧЕСКУ, Определение состояния пиридоксинового питания . 157

ВИКТОРИЯ АЛЕКСАНДРЕСКУ, Особенности биохимизма семян пшеницы, кукурузы и хлопка, стимулированных бромистым калием, гидрохиноном и глутаминовой кислотой 171

ВИКТОР ГЕЦИЕ и ЛУЧИЯ БУЗИЛЭ, Блокировка реакции побурения с целью изучения протеинов клеточного сока листьев 181

ЛИДИЯ ВАЙКУМ, Исследование некоторых растительных масел при помощи явления спонтанного помутнения их уксусно-толуоловых растворов при контакте с водой 193

ЛАБОРАТОРНЫЕ ЗАМЕТКИ

ОДЕТТ ЗАХАРИЯ, Влияние рибонуклеиновой кислоты на скопление протеинов в растениях 201

ОБЩИЕ РЕФЕРАТЫ

В. ЕШАНУ, Биохимические основы иммунитета растений в свете III Всесоюзного совещания по вопросам иммунитета растений (СССР, 1959) 205

РЕЦЕНЗИИ 211

ХРОНИКА БИОХИМИИ В РНР 223

ИЗ ИСТОРИИ БИОХИМИИ В РНР 231

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

CONTRIBUȚII LA STUDIUL CHIMIC ȘI IMUNOCHIMIC AL STAFILOCOAGULAZEI

DE

EUGENIA SORU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

MARIA ISTRATI, D. TĂNĂSESCU și S. COMOROȘAN

Izolarea enzimelor în stare foarte pură este indispensabilă pentru cunoașterea naturii chimice și a mecanismului de acțiune al acestor sisteme biologice de importanță primordială. Aceasta este deosebit de important și în cazul particular al germenilor patogeni, la care, foarte adesea, caracterul de patogenitate este corelat cu prezența în echipamentul lor enzimatic a unor anumite enzime. Astfel, în grupul stafilococilor, caracterul de patogenitate este corelat cu prezența α-hemolizinei [10], coagulazei [10], fosfatazei [10], arginazei [7], hialuronidazei [10], stafilochinazei [10], desoxiribonucleazei [10], dar testul cel mai frecvent folosit ca un criteriu de apreciere al acestui caracter este *testul coagulazei*. Aproximativ 98% din stafilococii patogeni conțin coagulaza și în același timp această enzimă lipsește din echipamentul enzimatic al stafilococilor nepatogeni. Rolul coagulazei apare astfel ca determinant în patogeneza stafilococului și prezența sa constituie un index al potențialului său patogenic.

Stafilocoagulaza are capacitatea de a cataliza procesul enzimatic de coagulare al plasmei sangvine; mecanismul de acțiune cu care participă la procesul de transformare al fibrinogenului la fibrină nu este încă bine precizat, deși studiul acestui mecanism a constituit preocuparea a numeroși cercetători. De asemenea cunoștințele asupra componenței chimice și a calităților imunochimice sînt încă foarte reduse pentru a putea corela acțiunea sa cu anumite detalii ale structurii chimice. S-au descris două tipuri de coagulază și anume: coagulaza *legată*, care poate fi eliberată numai prin autoliză sau dezintegrare celulară și coagulaza *liberă*, care difuzează în mediul de cultură, fiind deci o coagulază extracelulară. Coagulaza *liberă* necesită pentru acțiunea de transformare a fibrinogenului la fibrină prezența unui activator, așa-numitul „coagulase reacting factor" (CRF) [5].

Studiile chimice și imunologice, ale căror rezultate sînt redate în lucrarea de față, se raportează la coagulaza *liberă*, obținută sub formă de puritate avansată.

Material şi metodă. Tulpina stafilococică, folosită pentru obţinerea coagulazei, este o tulpină puternic coagulazopozitivă, aparţinînd tipului 80*). *Mediul de cultură* este un mediu lichid ce conţine hidrolizat enzimatic de cazeină şi este repartizat în plăci Fernbach. Culturile se menţin timp de 12 ore la 37°C şi sînt supuse în cursul acestui interval unei agitări orizontale. După trecerea intervalului de creştere germenii sînt îndepărtaţi prin centrifugare şi supernatantul de centrifugare este trecut printr-o pătură de hyflosupercell [6], deoarece trecerea prin filtre de asbest (Zeitz E.K.) reţine prin absorbţie coagulaza *liberă*. Filtratul, controlat din punctul de vedere al activităţii coagulazice, este supus manipulărilor succesive folosite pentru purificarea enzimei. Aceste manipulări sînt redate în schemă şi comportă următoarea succesiune :

Schema de purificare a coagulazei stafilococice

Culturi 12 h, t = 37°C
agitare orizontală, centrifugare

depozit microbian înlăturat	supernatant trecut printr-o pătură de hyflosupercell, acidifiere la pH=3,8
supernatant înlăturat	precipitat neutralizat la pH = 7,0, centrifugare
precipitat înlăturat	supernatant etanol 96°(1 : 3, t = — 5°C)
supernatant înlăturat	precipitat reluat în apă distilată, centrifugare
precipitat înlăturat	supernatant saturat cu $CdSO_4$, centrifugare
supernatant înlăturat	precipitat reluat cu HCl 0,1 N şi dializat faţă de HCl 0,1 N, centrifugare
precipitat înlăturat	supernatant ↓ liofilizat

separare prin electroforeză continuă pe hîrtie la pH = 5,6

*) Tulpina ne-a fost pusă la dispoziţie de tov. dr. M. Popovici din Secţia stafilococ a Institutului „Dr. I. Cantacuzino", căreia îi mulţumim pe această cale.

1. Acidifierea filtratului la pH = 3,8 prin adaos lent de HCl 4N [8], [3]. Se formează un precipitat ce conţine coagulaza împreună cu o serie de compuşi de balast.
2. Recoltarea precipitatului prin centrifugare, reluarea în suspensie apoasă, neutralizarea la pH egal cu 7,0 (NaOH 4N). Coagulaza trece în soluţie, fracţiunea insolubilă fiind înlăturată prin centrifugare.
3. Supernatantul de centrifugare este răcit la −5°C şi precipitat cu etanol (96°) în raportul egal cu 1 : 3. Precipitarea se efectuează la −5°C.
4. Precipitatul etanolic este reluat cu apă distilată, se îndepărtează prin centrifugare fracţiunea insolubilă şi în supernatant se adaugă sulfat de cadmiu pînă la saturare [4]. Se formează un precipitat care antrenează şi coagulaza liberă.
5. Precipitatul este suspendat în HCl 0,1N şi supus dializei faţă de HCl 0,1 N (+4°C) pînă la îndepărtarea totală a sulfatului de cadmiu.
6. Conţinutul sacului de dializă este centrifugat pentru îndepărtarea fracţiunii insolubile şi supernatantul limpede, liofilizat şi supus controlului electroforetic la pH = 6,0, prezintă *3 fracţiuni*, avînd viteze diferite de migrare.
7. Preparatul conţinînd 3 fracţiuni este supus electroforezei continue pe hîrtie (aparatul model Grassman şi Hennig) la pH = 5,6 acest pH fiind apropiat de pH-ul izoelectric al coagulazei [6], ceea ce permite separarea fracţiunii coagulazice de fracţiunile inactive, care au viteze de migrare mai mari la acest pH.

Componenta coagulazopozitivă separată prin electroforeză continuă pe hîrtie, controlată din punctul de vedere al omogenităţii se prezintă electroforetic omogenă. Produsele izolate în fiecare din etapele de purificare sînt controlate pentru activitatea lor coagulazică, folosind tehnica recent indicată [6]; (0,2 ml plasmă umană diluată (1/5) menţinere pe baie de apă la 37°C, adaos de 0,02 ml dintr-o suspensie 6% filtercell şi ulterior 0,02 ml soluţie de coagulază de diferite diluţii. Se notează tubul în care apare aglutinarea particulelor de filtercell după 15 şi 40 s, o unitate/ml corespunzînd la concentrarea soluţiei în care apare coagularea după 20 s). Pornind de la preparatul iniţial care conţine 15 unităţi/mg proteină, se ajunge la preparatul final şi electroforetic omogen care conţine 350 unităţi/mg proteină. Fracţiunea coagulazopozitivă şi electroforetic omogenă se menţine sub formă liofilizată, fiind supusă analizei chimice şi controlului caracterului antigenic.

DATELE CHIMICE

Azotul total, determinat după distrugerea substanţei organice (micro-kjeldahl), corespunde unei proporţii de 16%.
Controlul cromatografic (cromatografie pe hîrtie) nu indică prezenţa glucidelor. Nu dă reacţiile specifice pentru *glucozamină* şi *acizi uronici*. Nu dă reacţiile specifice pentru *purine* şi *acizi nucleici*. Dă reacţiile caracteristice proteinelor. Prin hidroliză totală separă aminoacizii componenţi identificaţi şi dozaţi prin cromatografie pe hîrtie.

Determinarea cromatografică a aminoacizilor. Preparatul coagulazic este supus hidrolizei totale în tub închis cu HCl 6 N timp de 24 ore la 100°C. După hidroliză se îndepărtează HCl prin evaporări repetate şi antrenarea urmelor de acid cu vapori de apă; reziduul este reluat într-un volum mic de propanol 10%, soluţia obţinută după filtrare fiind supusă analizei cromatografice calitative şi cantitative. Se foloseşte hîrtie Whatman nr. 1 şi ss 2043 a iar ca lichid de developare se foloseşte amestecul clasic format din *n*-butanol — acid acetic — apă (11 : 3 : 11). Pentru a realiza separarea eficace a blocului acid aspartic — serină — glicocol, a blocului arginină — histidină — lizină şi a blocului acid glutamic — treonină, se fac uscări şi irigări repetate (4—5 ori) ale aceleiaşi cromatograme. Cromatograma finală, după uscare la 90°C, este pulverizată cu soluţie de ninhidrină 0,1% în acetonă şi lăsată să se usuce la temperatura camerei şi la întuneric. Identificarea aminoacizilor se face cu ajutorul soluţiilor martor de aminoacizi cunoscuţi, prelucrate concomitent şi aplicate pe aceeaşi cromatogramă. Dozarea aminoacizilor se face prin transformarea complexului ninhidrinic în complex de cadmiu. Petele colorate, după pulverizarea cu ninhidrină, sînt decupate şi apoi tăiate fiecare în fragmente foarte mici, care se introduc în eprubete. Fragmentele sînt umectate cu reactivul conţinînd sarea de cadmiu [1] iar după uscare la temperatura camerei şi la întuneric, sînt eluate cu metanol. Eluatul metanolic de culoare roz şi de intensitate variabilă este fotometrat, folosind filtrul S.53. Se calculează valorile raportînd citirile la valorile martorilor de aminoacizi. În continuare este indicată componenţa în aminoacizi a coagulazei purificate.

Aminoacizii componenţi ai coagulazei purificate
(mg la 100 mg proteină)

Cistină	2,30
Cisteină	1,70
Arginină	4,30
Lisină	4,60
Histidină	6,80
Acid aspartic	3,00
Acid glutamic	6,30
Serină	2,00
Glicocol	3,00
Treonină	3,20
Alanină	6,00
Prolină	3,30
Tirosină	1,40
Valină	3,70
Metionină	1,62
Fenilalanină	3,00
Leucină	4,50

Caracterul antigenic al coagulazei purificate. Problema antigenităţii coagulazei este mult discutată, rezultatele relatate de diferiţi autori fiind contradictorii. Pentru controlul proprietăţii antigenice preparatul purificat este inoculat la iepure pe cale intraperitoneală şi sub formă adsorbită

pe alaun de potasiu. Se inoculează un lot de zece iepuri, controlaţi în prealabil în ceea ce priveşte proprietăţile anticoagulazice naturale ale serului acestor animale. Se administrează un total de 60 mg enzimă, cantitate eşalonată în cantităţi crescînde şi la intervale de şapte zile, începînd cu 3 mg/ml. În sîngele recoltat la şapte zile de la ultima inoculare se efectuează controlul imunizării prin testul de apariţie a anticorpilor precipitanţi şi testul de inhibare a activităţii coagulazice.

Controlul apariţiei anticorpilor precipitanţi se efectuează prin metoda inelului şi metoda difuziunii în gel de agar.

Metoda inelului comportă : 0,5 ml plasmă umană, 0,4 ml coagulază de diluţii variate, 0,4 ml ser imun. Sistemul este incubat timp de două ore la 37°C şi este lăsat 24 ore la temperatura camerei ; se notează tubul limită la care după 2 şi 24 ore apare un inel de precipitare. Pentru diferitele seruri ale diferitelor animale imunizate se obţin inele de precipitare pentru diluţii care variază între 1/10 000 şi 1/30 000.

Metoda difuziunii in gel foloseşte serul nediluat de iepure imunizat şi coagulaza în concentraţie de 10 mg/ml. Se constată apariţia unei singure benzi de precipitare, ceea ce indică şi omogenitatea preparatului coagulazic.

Controlul apariţiei anticorpilor anticoagulazici se efectuează în sistemul 0,5 mg plasmă umană, căruia i se adaugă un amestec prealabil pus în contact timp de 30 min la răcitor şi care conţine 0,5 ml soluţie de coagulază de concentraţii diferite şi 0,5 ml ser imun. Sistemul plasmă umană — soluţie de coagulază — ser imun se menţine timp de două ore la 37°C, se notează concentraţia maximă de coagulază pentru care nu apare cheagul de fibrină. Această concentraţie maximă variază pentru diferitele seruri între 60 şi 100 mg/ml. Rezultatele obţinute indică caracterul antigenic al coagulazei purificate şi confirmă astfel afirmaţia autorilor care atribuie acestei enzime proprietăţi antigenice [3], [9].

Electroforeza serurilor anticoagulazice. Electroforeza pe hîrtie a serurilor anticoagulazice indică o creştere a α_2 şi γ-globulinelor. Valorile medii ale diferitelor fracţiuni proteinice sînt în procente : albumine : 40, α_1 : 6, α_2 : 20, β : 9, γ : 25.

CONCLUZII

S-a studiat din punct de vedere chimic şi antigenic coagulaza stafilococică extracelulară (coagulaza *liberă*) obţinută sub formă de purificare avansată. Purificarea comportă o serie de etape succesive de precipitare la pH = 3,8, precipitare cu etanol, precipitare cu sulfat de cadmiu şi separare finală a componentei coagulazoactive prin electroforeză continuă pe hîrtie. Coagulaza astfel obţinută este omogenă la controlul electroforetic şi de difuziune în gel de agar. Coagulaza purificată are caracter proteinic. Nu conţine glucide demonstrabile cromatografic, nu conţine glucozamină, acizi uronici, acizi nucleici. Aminoacizii componenţi sînt identificaţi şi dozaţi pe cale cromatografică.

Caracterul antigenic al preparatului coagulazic purificat a fost pus în evidenţă prin apariţia în serul iepurilor inoculaţi intraperitoneal cu preparatul adsorbit pe alaun de potasiu a anticorpilor precipitanţi (proba inelului şi precipitarea în gel de agar) şi a anticorpilor inhibitori ai activităţii coagulazice.

Prezentată la redacţie la 9 decembrie 1959

Laboratorul de enzimologie al secţiei de chimie generală, Centrul de cercetări chimice al Academiei R.P.R., Bucureşti

К ВОПРОСУ О ХИМИЧЕСКОМ И ИММУНОХИМИЧЕСКОМ ИЗУЧЕНИИ СТАФИЛОКОАГУЛАЗЫ

РЕЗЮМЕ

Авторы изучали с химической и антигенной точек зрения внеклеточную стафилококковую коагулазу (свободную коагулазу), полученную повторной очисткой. Очистка состояла из ряда последовательных этапов: осаждения при pH = 3,8, осаждения этиловым спиртом, осаждения сернокислым кадмием и окончательного выделения коагулазоактивного компонента непрерывным электрофорезом на бумаге. Полученная таким образом коагулаза оказывается однородной при электрофоретическом контроле и при диффузии в агар-агаровом геле. Она — протеинового характера, не содержит ни хроматографически выявляемых сахаров, ни глукезамина, ни уроновых или нуклеиновых кислот. Входящие в ее состав аминокислоты подверглись идентификации и дозировке хроматографическим путем.

Антигенный характер очищенного препарата коагулазы был выявлен появлением в сыворотке кроликов, которым внутрибрюшинно вводили адсорбированный на калийных квасцах препарат осаждающих антител (кольцевая проба и осаждение в агар-агаровом геле) и антител, тормозящих активность коагулазы.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE CHIMIQUE ET IMMUNOCHIMIQUE DE LA STAPHYLOCOAGULASE

RÉSUMÉ

La coagulase staphylococcique extracellulaire (coagulase *libre*), obtenue sous une forme de purification avancée, a été étudiée du point de vue chimique et antigénique. La purification comporte une série d'étapes successives : précipitation à un pH = 3,8, précipitation à l'éthanol, précipitation au sulfate de cadmium et séparation finale de la composante coagulaso-active par électrophorèse continue sur papier. La coagulase ainsi

obtenue a été trouvée homogène lors du contrôle électrophorétique et de la diffusion en gel d'agar. Elle a un caractère protéique, ne contient pas de glucides qu'on puisse mettre en évidence par chromatographie, et ni glucosamine, ni acides uroniques ou nucléiques. Les acides aminés composants ont été identifiés et dosés par voie chromatographique.

Le caractère antigénique de la coagulase purifiée a été mis en évidence par l'apparition, dans le sérum des lapins inoculés par voie intrapéritonéale avec cette préparation — préalablement adsorbée sur alun de potassium — , des anticorps précipitants (test de l'anneau et précipitation en gel d'agar) ainsi que par l'apparition des anticorps inhibiteurs de l'activité coagulasique.

BIBLIOGRAFIE

1. BARROLIER J., Naturwiss., **42**, 416 (1955).
2. BLAIR J. E., *Factors determining the pathogenicity of staphylococci.* Annual Review of Microbiology, **12**, (1958).
3. BOAKE W. C., J. Immunol., **76**, 89 (1956).
4. DUTHIE E. S., LORENZ L., J. Gen. Microbiol., **6**, 95 (1951).
5. DUTHIE E. S., J. Gen. Microbiol., **10**, 427 (1954).
6. DUTHIE E. S., HAUGHTON G., Biochem. J., **70**, 125 (1958).
7. SORU E., NESTORESCU N., POPOVICI M., IONESCU M., Studii şi cercetări de infamicrobiologie şi parazitologie, **8**, 395 (1957).
8. TAGER M., Yale J. biol. med., **20**, 487 (1948).
9. TAGER M., HALES H. B., J. Immunol., **60**, 475 (1948).
10. ВЫГОДЧИКОВ В. Г., Микробиология и иммунология стафилококковых болезней, Медгиз., Москва, 1950.

BIOCHIMIA CREIERULUI

XII. STUDIUL CORELAȚIEI DINTRE ACIDUL LACTIC ȘI ACIDUL PIRUVIC DIN SCOARȚA CEREBRALĂ A ȘOBOLANILOR ÎN STARE DE EXCITAȚIE ȘI INHIBIȚIE MEDICAMENTOASĂ

DE

S. OERIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

G. COSTESCU, O. TEODORESCU și M. A. DIMITRIU

În lucrări anterioare, în cadrul problemei *Biochimia creierului*, s-a arătat că prin modificarea activității funcționale normale a creierului, de exemplu prin excitație și inhibiție medicamentoasă, apar modificări importante ale substratului biochimic [1], [2], [3].

În lucrarea de față ne-am propus să urmărim influența excitației și a inhibiției medicamentoase asupra metabolismului glucidic în celula nervoasă, prin studiul variației concentrației acidului piruvic și a acidului lactic, produși ai metabolismului anaerob al glucozei.

Sursa energetică principală a țesutului nervos o reprezintă glucidele, care prin lanțul de reacții de glicoliză furnizează această energie [4], [5]. Datorită intensității mai mari de combustie a glucidelor în creier, concentrația acidului piruvic este mai mare decît în țesutul muscular [6].

MATERIAL ȘI METODE

Determinările de acid piruvic și acid lactic s-au făcut pe un număr de 250 șobolani de vîrstă medie, care au fost împărțiți în trei grupe mari, din care două au fost supuse tratamentului cu benzedrină, respectiv luminal iar a treia a servit ca martor.

Starea de excitație s-a realizat prin injectare de benzedrină în doze zilnice de 0,5 mg/100 g șobolan timp de 20 de zile iar starea de inhibiție prin injectare de luminal, în doze zilnice de 6 mg/100 g șobolan timp de 20 de zile. În tot acest interval, animalele supuse tratamentului și cele mar-

tore au fost ţinute în aceleaşi condiţii de cazare şi alimentaţie. La sfîrşitul perioadei de tratament, animalele au fost sacrificate prin congelare în aer lichid.

Dozările de acid piruvic şi acid lactic s-au făcut pe substanţa cenuşie, care prezintă un metabolism mai intens decît substanţa albă.

Dozarea acidului piruvic s-a făcut după metoda G. D. Lu [7] şi L. Bueding şi H. Wortis [8]; principiul metodei constă în dozarea fotometrică a dinitrofenilhidrazonei corespunzătoare acidului piruvic.

Scoarţa cerebrală recoltată de la şobolani se mojarează în prezenţă de monoiodacetat iar după centrifugare se ia 1 ml care se deproteinizează cu acid tricloracetic 10%. Filtratul se tratează cu 2,4-dinitrofenilhidrazină iar după 10 min se adaugă 4 ml acetat de etil. Extractele cu acetat de etil se tratează cu carbonat de sodiu 10% şi apoi cu hidroxid de sodiu 2N. Se obţine un produs de culoare roşie, a cărei intensitate se determină fotometric, în raport cu o curbă etalon. Rezultatele obţinute sînt indicate în tabela 1.

Tabela 1

Valorile medii ale concentraţiei acidului piruvic, mg%, în scoarţa cerebrală a şobolanilor în stare de excitaţie şi inhibiţie medicamentoasă

	Media aritmetică	Nr. determinări	Diferenţa faţă de medie
Animale martore	5,15	4	—
Animale în stare de excitaţie	7,60	4	2,45***
Animale în stare de inhibiţie	3,92	4	1,23*

Din tabelă se vede că faţă de animalele martore, concentraţia acidului piruvic este mărită în starea de excitaţie şi este scăzută în starea de inhibiţie. Prin aplicarea metodei de calcul statistic la valorile obţinute, rezultă că diferenţele faţă de medie, înregistrate la animalele tratate cu benzedrină şi luminal, sînt semnificative [9].

Dozarea acidului lactic s-a făcut după metoda S. B. Barker şi W. H. Summerson [10]; principiul metodei constă în dozarea fotometrică a produsului format de aldehida corespunzătoare acidului lactic cu *p*-hidroxidifenilul.

Proteinele din scoarţa cerebrală, precipitate cu acid tricloracetic, s-au separat prin centrifugare. Supernatantul s-a tratat cu $CuSO_4$ 20% şi apoi cu $Ca(OH)_2$ solid iar după centrifugare s-au luat probe de cîte 1 ml care s-au introdus în eprubete cu dop şlefuit, adăugîndu-se $CuSO_4$ 12% şi acid sulfuric concentrat. Probele au fost încălzite la 60°C, după care s-a adăugat *p*-hidroxidifenil pentru dezvoltarea reacţiei de culoare. După 20 min, probele s-au ţinut în apă la fierbere timp de 90 s, după care s-au răcit. Intensitatea de culoare a produsului de condensare format de *p*-hidroxidifenil şi aldehida corespunzătoare acidului lactic, s-a determinat fotometric la 560 mμ.

Rezultatele obţinute sînt indicate în tabela 2.

Din tabelă se vede că față de animalele martore, concentrația acidului lactic este crescută în starea de excitație și este practic nemodificată în starea de inhibiție. Prin aplicarea metodei de calcul statistic la valorile

Tabela 2

Valorile medii ale concentrației acidului lactic, mg%, în scoarța cerebrală a șobolanilor în stare de excitație și inhibiție medicamentoasă

	Media aritmetică	Nr. determinări	Diferența față de medie
Animale martore	89,81	12	—
Animale în stare de excitație	115,31	11	25,50***
Animale în stare de inhibiție	90,75	9	0,94

obținute, rezultă că diferența față de medie, înregistrată la animale tratate cu benzedrină, este semnificativă, în timp ce diferența înregistrată la animale tratate cu luminal nu este semnificativă.

DISCUȚIA REZULTATELOR

Modificările semnalate în concentrația acidului piruvic și a acidului lactic din scoarța cerebrală a șobolanilor supuși tratamentului cu benzedrină și luminal, arată că aceste substanțe influențează procesele de formare și de degradare a componentelor studiate.

Sub acțiunea benzedrinei, substanță simpatico-mimetică cu acțiune excitantă asupra sistemului nervos, concentrațiile acizilor piruvic și lactic sînt crescute față de martor.

Se știe că benzedrina împiedică degradarea adrenalinei în aldehida corespunzătoare, prin inhibarea aminoxidazei, enzimă care catalizează reacția [11]. Deci, prin această acțiune, benzedrina favorizează efectul hiperglicemiant al adrenalinei, ceea ce are ca urmare un aport crescut de glucoză. Acțiunea indirectă a benzedrinei, prin intermediul adrenalinei, ar explica și creșterea concentrației de acid piruvic, ca rezultat al degradării glucozei.

Creșterea concentrației acidului lactic depinde de creșterea concentrației acidului piruvic, deoarece acidul lactic rezultă prin reducerea acidului piruvic sub acțiunea $CoIH_2$.

Valorile crescute ale concentrațiilor componentelor studiate, sub acțiunea tratamentului cu benzedrină, ar sugera ipoteza că pe de o parte, glucoza — componentă care face posibilă această creștere — este ea însăși într-o concentrație mai mare, datorită efectului hiperglicemiant al adrenalinei iar pe de altă parte că activitatea $CoIH_2$ nu este inhibată de benzedrină.

Valorile mari ale concentrației acidului piruvic sub acțiunea tratamentului cu benzedrină, s-ar mai putea datora și unui efect de inhibare a procesului de degradare oxidativă a acidului piruvic, efect produs de benzedrină.

În lucrări anterioare [2] s-a arătat experimental că sub acţiunea benzedrinei, concentraţia acidului oxalacetic din scoarţa cerebrală este crescută faţă de martor. Această creştere concomitentă a concentraţiilor acizilor piruvic şi oxalacetic, indică posibilitatea de a întrevedea, în condiţiile experimentale menţionate, o inhibare a procesului de degradare oxidativă a acidului piruvic.

Sub acţiunea luminalului, substanţă cu acţiune de inhibare asupra sistemului nervos, concentraţia acidului piruvic este scăzută faţă de martor, în timp ce concentraţia acidului lactic nu prezintă modificări semnificative.

Micşorarea concentraţiei acidului piruvic sub acţiunea tratamentului cu luminal, s-ar putea datora unei scăderi în intensitatea procesului de glicoliză. Pare mai greu să se admită că scăderea ar rezulta din intensificarea proceselor oxidative, deoarece substanţele cu acţiune de inhibare asupra sistemului nervos — cum este luminalul — produc o inhibare a unora din sistemele enzimatice, ce participă la procesele de oxidare din creier.

Lucrările anterioare menţionate [2] au arătat că sub acţiunea tratamentului cu luminal, valorile concentraţiei acidului oxalacetic sînt scăzute faţă de martor, în timp ce valorile concentraţiei acidului citric sînt crescute.

Faptul că în aceleaşi condiţii experimentale, concentraţia acidului piruvic este scăzută faţă de martor, după cum s-a arătat, s-ar putea interpreta în sensul că sub acţiunea luminalului, prima etapă de degradare oxibiotică — condensarea acidului piruvic cu acidul oxalacetic pentru a forma acidul citric — are loc, ceea ce se reflectă în scăderea concentraţiilor acizilor piruvic şi oxalacetic, concomitent cu creşterea concentraţiei de acid citric. Etapele ulterioare de degradare oxidativă, care duc de la acid citric din nou la acid oxalacetic, se pare că ar fi inhibate, deoarece concentraţia acidului oxalacetic (nu şi aceea a acidului citric) rămîne scăzută.

Prezentată la redacţie la 15 decembrie 1959

Colectivul de chimioterapie în colaborare cu colectivul de biochimie din I.M.F., Bucureşti

БИОХИМИЯ МОЗГА

XII. ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ МОЛОЧНОЙ И ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТАМИ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ВОЗБУЖДЕНИИ И ТОРМОЖЕНИИ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

РЕЗЮМЕ

В настоящей работе были исследованы изменения в содержании пировиноградной и молочной кислот в коре головного мозга крыс при возбуждении и торможении нервной деятельности путем применения бензедрина и соответственно люминала.

Результаты приводят к следующим выводам:

— Содержание пировиноградной кислоты у крыс, обработанных бензедрином, повышено на 49%, а у крыс, обработанных люминалом, понижено на 23%. Содержание молочной кислоты под влиянием бензедрина повышено на 28%, а люминал не оказывает значительного влияния на содержание молочной кислоты.

— Повышение содержания пировиноградной и молочной кислот под влиянием бензедрина указывает на усиление обменных процессов и накопление пировиноградной кислоты, которая частично превращается в молочную кислоту. Бензедрин в этих условиях стимулирует процесс гликолиза.

— Понижение содержания пировиноградной кислоты под влиянием люминала свидетельствует о понижении процесса гликолиза и вообще обменных процессов, приводящих к образованию пировиноградной кислоты.

— Люминал, в этих условиях, оказывает тормозящее влияние на этот обменный процесс.

LA BIOCHIMIE DU CERVEAU

XII. ÉTUDES SUR LA CORRÉLATION ENTRE L'ACIDE LACTIQUE ET L'ACIDE PYRUVIQUE DE L'ÉCORCE CÉRÉBRALE DU RAT À L'ÉTAT D'EXCITATION ET D'INHIBITION MÉDICAMENTEUSE

RÉSUMÉ

Dans le présent travail, les auteurs ont étudié la variation de la concentration des acides lactique et pyruvique dans l'écorce cérébrale des rats, à l'état d'excitation et d'inhibition médicamenteuse, obtenue par l'administration de benzédrine ou, respectivement, de luminal.

Les résultats des recherches mènent aux conclusions suivantes :

— La concentration de l'acide pyruvique, chez les animaux traités à la benzédrine, présente une augmentation par rapport aux témoins et une baisse sous l'action du luminal.

— La concentration de l'acide lactique augmente sous l'action de la benzédrine, tandis que le luminal n'entraîne pas de modification significative.

— La concentration accrue des acides pyruvique et lactique, par suite de l'administration de benzédrine, reflète une intensification des processus qui mènent à la formation de l'acide pyruvique, dont une partie se transforme ultérieurement en acide lactique. Le catabolisme du glucose étant la voie prédominante, il semble que la benzédrine agit comme stimulant des processus de glycolyse.

— La concentration diminuée de l'acide pyruvique, chez les animaux traités au luminal, indique une diminution d'intensité du processus de glycolyse et des processus qui mènent, en général, à la formation de l'acide pyruvique, ce qui indiquerait le rôle inhibiteur du luminal à ces étapes.

BIBLIOGRAFIE

1. S. OERIU, Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *1*, 23 (1958).
2. S. OERIU şi colaboratori, Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *3*, 205 (1958).
3. S. OERIU, G. COSTESCU, O. TEODORESCU, Buletinul sesiunii ştiinţifice a I.M.F., 1959, 289.
4. А. В. ПАЛЛАДИН, *Итоги и задачи исследований в области биохимии головного мозга.* Биохимия нервной системы, Изд. Акад. Наук УССР, Киев, 1954, 7.
5. Б. А. ХАЙКИНА, Е. Е. ГОНЧАРОВА, *Обмен полизахаридов в головном мозгу и его изменения при различных функциональных состояниях.* Биохимия нервной системы, Изд. Акад. Наук УССР, Киев, 1954, 63.
6. D. GREENBERG, *Chemical pathways of metabolism.* New York, 1954, **I**, 130.
7. G. D. LU, Bioch. Journ., **33**, 249 (1939).
8. L. BUEDING, H. WORTIS, J. Biol. Chem., **133**, 585 (1940).
9. V. SĂHLEANU, *Metode matematice în cercetarea medicobiologică.* Ed. medicală, 1957, 147—232.
10. S. B. BARKER., W. H. SUMMERSON, J. Biol. Chem., **138**, *2*, 535 (1951).
11. E. CIORĂNESCU, *Medicamente de sinteză.* Ed. tehnică, 1957, 138—151.

CERCETĂRI ASUPRA UNOR CĂI DE INHIBARE A DEZVOLTĂRII REZISTENȚEI MICROBIENE

DE

SIMION OERIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

În ultimii ani, studiul antibioticelor și al substanțelor chimioterapice a luat o dezvoltare însemnată în tratamentul bolilor infecțioase.

Posibilitatea de a folosi antibioticele pe o scară mai largă, este îngreuiată de apariția rezistenței microbiene în cursul tratamentului [1]—[9].

Una din cele mai actuale probleme ale chimioterapiei este căutarea substanțelor chimioterapice și antibiotice eficace și a metodelor de aplicare rațională a lor, cu scopul inhibării dezvoltării rezistenței microbiene la aceste substanțe.

În anul 1946, pornind de la ideea sinergismului bacteriostatic al substanțelor chimioterapice, am ridicat problema inhibării dezvoltării rezistenței microbiene folosind metoda combinării chimice a două sau mai multe substanțe antibacteriene cu variate funcțiuni chimice și acțiuni farmacodinamice și antimicrobiene diferite, în scopul de a ataca concomitent mai multe verigi din lanțul reacțiilor metabolice ale germenilor patogeni. Pe baza acestui principiu a fost sintetizată sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicina [10], [11].

Rezistența bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* față de sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină se dezvoltă *in vivo* și *in vitro* mai greu, în raport cu rezistența indusă de streptomicină [12], [13].

Experiențele de antrenare la rezistență a bacilului tuberculos *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti*, folosind metoda trecerilor pe medii conținînd concentrații crescînde de antibiotice, au arătat că rezistența la 25 000 γ/cm^3 antibiotic pe medii cu streptomicină (pornind de la diluția de 1/6 000 000) apare după 19 treceri iar pe medii cu sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină (pornind de la diluția de 1/13 000 000) după 34 treceri, ceea ce dovedește că metabolismul bacterian se adaptează mai greu și mai încet la ultimul antibiotic.

Rezistența cîștigată față de sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină se dovedește a fi instabilă, ea pierzîndu-se după 7 treceri pînă la 4 200 γ/cm³ mediu fără sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină, spre deosebire de rezistența dobîndită la streptomicină care nu se modifică după 7 treceri pe medii fără streptomicină.

Cercetările clinice și experimentale confirmă drept justă folosirea metodei combinării chimice a două sau mai multe substanțe cu structură chimică, acțiune farmacodinamică și antimicrobiană diferite, în scopul inhibării dezvoltării rezistenței microbiene (A. E. Rabuhin [14] și B. I. Stukalova [15]).

Cercetările lui A. I. Kalninis și A. A. Schmidt [16] duc de asemenea la concluzia că combinarea antibioticelor cu substanțe chimioterapice reprezintă o cale de inhibare a dezvoltării rezistenței microbiene. G. E. Waisberg [17] insistă ca la alegerea substanțelor ce urmează a fi combinate să se țină seama de acțiunea lor diferită asupra germenilor.

În acest sens sînt îndreptate cercetările lui H. Hobby [18] prin combinarea streptomicinei cu acidul *para*-amino-salicilic, cele ale lui J. Viaillier și M. Cayré [19] prin folosirea HIN-streptomicinei, ale lui M. Kourilsky și colaboratori [20] cu *para*-aminosalicilatul hidrazidei acidului izonicotinic.

La întrebarea asupra superiorității antibioticelor folosite în combinație chimică sau în asociație în combaterea rezistenței microbiene, cercetările lui P. Welch și B. J. Randall [21] duc la concluzia că aureomicina și bacitracina dau un efect bacteriostatic superior atunci cînd sînt combinate chimic sub formă de aureotracină.

Relevăm că activitatea respiratorie a mycobacteriilor (determinată prin metoda Warburg) diferă în prezența sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicinei față de aceea a streptomicinei (tabela 1).

Tabela 1

Valorile medii (după două ore) ale activității respiratorii a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* sensibil și rezistent (la 1000 γ/cm³) în prezența streptomicinei și a sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicinei

Concentrația γ/cm³	Activitatea respiratorie a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* % față de martor			
	Tulpina sensibilă		Tulpina rezistentă	
	Streptomicină	Sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină	Streptomicină	Sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină
10	+3	+12	+18,9	+7
40	+0,4	+23	+8	−6
100	−8,7	−5	+6,2	−14,4
1 000	−9,2	−10	+4	−20,3
10 000	−8,0	−21	−3	−37,2
100 000	−28	−	−12	−

La tulpinile sensibile, inhibarea respirației microbiene la concentrația de 10 000 γ/cm³ sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină, atinge valoarea de 21%; pentru o inhibare a respirației de 28% cu streptomicină,

este necesară o concentrație de 10 ori mai mare (100 000 γ/cm³) [22]. La tulpinile rezistente, în aceleași condiții experimentale, sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicina inhibă respirația bacteriană, în timp ce streptomicina, în general, o stimulează (tabela 1).

Aceste date corelate cu cele ale acțiunii bactericide*) a antibioticelor și ale adaptării microbului la antibiotic, fac loc ideii de corelație între gradul acțiunii bactericide a antibioticului și acțiunea sa asupra activității respiratorii a microbului și, probabil, între acțiunea antibioticului asupra activității respiratorii a germenului și intensitatea adaptării și dezvoltării rezistenței microbiene.

În continuarea cercetărilor noastre, am pornit de la ideea că dezvoltarea rezistenței microbiene ar putea fi prevenită sau inhibată printr-o concentrație bacteriostatică sangvină mai ridicată a substanței chimioterapice administrate (ceea ce nu este posibil decît cu substanțe cu toxicitate foarte scăzută). În acest scop, am emis, în 1952, ipoteza că pentru a realiza substanțe chimioterapice active și bine tolerate de organism, este necesară combinația chimică a unui principiu activ cu metaboliți de bază ai organismului, care au un rol important în metabolismul glucidelor, protidelor și grăsimilor. Pornind de la această ipoteză au fost sintetizate hidrazone ale hidrazidei acidului izonicotinic, obținute din condensarea cu acizii cetonici (acid piruvic, acid oxalacetic și acid α-cetoglutaric).

Hidrazonele obținute (acidul izonicotinoil-hidrazon-piruvic, acidul izonicotinoil-hidrazon-oxalacetic și acidul izonicotinoil-hidrazon-α-cetoglutaric) prezintă o acțiune tuberculostatică apropiată de aceea a hidrazidei acidului izonicotinic, o toxicitate acută mai scăzută (de 4,5—10 ori mai mică) și un indice terapeutic mai crescut (de 3—6 ori mai mare) [23].

Modificările produse în grupa -NH-NH_2 duc la substanțe cu o toleranță mai bună decît aceea a hidrazidei acidului izonicotinic (M. N. Sciukina, G. M. Perșin și O. O. Makeeva [24], [25]; E. M. Bavin, D. I. Drain, H. I. Seiler și D. E. Seymour [26]; H. Offe, W. Siefken și G. Domagk [27]), fapt care stă la baza preparării unui număr mare de derivați ai hidrazidei acidului izonicotinic, ca ftivazida, flavoteben, izoteben etc., folosite larg în practica medicală.

Experiențele *in vivo* au evidențiat că administrarea *per os* sau intramuscular a acidului izonicotinoil-hidrazon-piruvic duce, la cobai, la o bacteriostază sangvină înaltă.

Cu toată superioritatea hidrazonelor obținute, rezistența bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* față de acidul izonicotinoil-hidrazon-piruvic se dezvoltă cu aceeași viteză ca și în cazul hidrazidei acidului izonicotinic.

Experiențele de antrenare la rezistență a bacilului tuberculos la aceste două substanțe, arată că rezistența la 10 γ/cm³ apare pe medii cu hidrazida acidului izonicotinic după 8 treceri iar pe medii cu acid izonicotinoil-hidrazon-piruvic, după 10 treceri. De aici apare că obținerea unui

*) Acțiunea tuberculicidă a sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicinei este de 300 de ori mai mare decît aceea a streptomicinei.

prag sangvin bacteriostatic mare este importantă, însă insuficientă pentru a împiedica dezvoltarea rezistenței microbiene.

De asemenea, respirația tulpinilor rezistente și sensibile ale bacilului tuberculos sînt inhibate numai într-un grad neînsemnat de către cele două substanțe chimioterapice (tabela 2) [22].

Tabela 2

Valorile medii ale activității respiratorii a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ralli* sensibil și rezistent (la 10 γ/cm³ hidrazida acidului izonicotinic) în prezența hidrazidei acidului izonicotinic și a acidului izonicotinoil-hidrazon-piruvic, după două ore de contact

Concentrația γ/cm³	Activitatea respiratorie % față de martor			
	Tulpina sensibilă		Tulpina HIN-rezistentă la 10 γ/cm³	
	Hidrazida acidului izonicotinic	Acidul izonicotinoil-hidrazon-piruvic	Hidrazida acidului izonicotinic	Acidul izonicotinoil-hidrazon-piruvic
100	−13,5	−12	− 9	−16
400	−26,2	−19,5	−18	−22
1 000	−18,9	−16,5	−20	−25

Lipsa unei corelații dintre dezvoltarea rezistenței și pragul bacteriostatic sangvin a dus la studiul relației dintre structura chimică și dezvoltarea rezistenței microbiene, criteriul de bază fiind intensitatea gradului de inhibare a activității respiratorii a germenilor în prezența unor substanțe active cu toxicitate scăzută. În acest scop s-au preparat numeroase substanțe printre care : succinoil-*p*-aminobenzal-aliltiosemicarbazonă ; *o*-tioureidobenzal-tiosemicarbazonă ; *o*-, *m*- și *p*-dioxipropoxi-benzal-tiosemicarbazonă ; *o*-, *m*- și *p*-aliltioureido-benzoil-hidrazidă ; *o*-dioxi-propoxi-benzoil-piruvil-tiosemicarbazonă ; *o*-, *m*- și *p*-dioxi-propoxi-benzoil-hidrazidă ; acizii izonicotinoil-hidrazon-mercaptopiruvic, -izonicotinoil-hidrazon-brompiruvic, -izonicotinoil-hidrazon-levulinic ; *o*-, *m*- și *p*-dioxi-propoxibenzal-izonicotinoil-hidrazonă ; 4-dioxi-propoxi-3-metoxi-benzal-izonicotinoil-hidrazonă etc. Cu aceste substanțe nu s-a obținut o inhibare marcată a respirației microbiene și nici a rezistenței microbiene.

Cercetările lui B a u d r a n, care arată că în componența chimică a bacilului tuberculos ar intra un important conținut de celuloză (3,6 — 5,5 %) au condus la ideea (în 1953) de a căuta printre ciupercile xylophage (ciuperci de descompunere a lemnului) un antibiotic natural cu acțiune tuberculostatică, dar mai ales cu acțiune tuberculicidă [28].

Din *Coniophora cerebella*, o ciupercă din subclasa *Basidiomicetelor*, familia *Thelephoraceelor*, s-a obținut *coniophorina*, un antibiotic cu o valoare tuberculostatică redusă, dar tuberculicid ; pragul bactericid este foarte apropiat de cel bacteriostatic (activitatea tuberculicidă de 1/7 600 este foarte apropiată de cea tuberculostatică de 1/30 000). Raportul dintre pragul acțiunii tuberculicide și pragul acțiunii tuberculostatice este de 1 : 2,6 — 4.

În prezența unui număr redus de unități tuberculostatice (400 u/cm³) respirația germenilor *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* este total inhibată (tabela 3).

Experiența de antrenare la rezistență a *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* față de coniophorină în comparație cu streptomicina, arată că după 10 treceri pe medii cu streptomicină se obține o rezistență la 1 200 γ/cm³, în timp ce pe medii cu coniophorină rezistența nu se dezvoltă.

Tabela 3

Valorile medii ale activității respiratorii a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența coniophorinei, în comparație cu streptomicina (după două ore)

Concentrația γ/cm³	Activitatea respiratorie % față de martor		
	În prezența coniophorinei	γ/cm³	În prezența streptomicinei
5	+100	5	+10
10	+170	10	+ 4
20	+ 70	20	+ 1,2
40	− 20	40	+ 0,4
100	− 50	100	− 8,7
200	− 70	1 000	− 9,2
400	−100	10 000	− 8,0
1 000	−100	100 000	−28

Din aceste date reiese importanța unei zone cît mai restrînse între pragul bacteriostatic și cel bactericid, ceea ce se oglindește în inhibarea totală a activității respiratorii a mycobacteriilor și în prevenirea dezvoltării rezistenței microbiene de un număr redus de unități bacteriostatice [29].

Aceste rezultate deschid un drum nou în prepararea de substanțe chimioterapice, diferit de cel cunoscut pînă acum. În scopul inhibării dezvoltării rezistenței microbiene, apare utilă obținerea de substanțe cu acțiune bacteriostatică chiar mai redusă, însă cu activitatea bactericidă apropiată de cea bacteriostatică.

Această concepție a fost verificată de noi cu alte substanțe care au o zonă restrînsă între activitatea bacteriostatică și cea bactericidă [30], [31], [32].

Cercetările noastre din 1955, care au pornit de la ideea că din conifere s-ar putea obține principii active (numeroase sanatorii de tuberculoză fiind situate în regiuni cu păduri de conifere) au dus la rezultate pozitive,

Acțiunea tuberculicidă a rășinilor și a acizilor de tip abietinic (ca și aminele izopropilice ale acestora) obținuți din conifere (*Picea excelsa. Picea polita, Pseudotsuga taxifolia, Pinus montana* etc.) este foarte apropiată (1 : 3) de cea tuberculostatică (ca și în cazul coniophorinei).

Experiențele de antrenare la rezistență a *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* și a *Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Rv$, în prezența unor concentrații crescînde de rășini, de acizi de tip abietinic și de amina izopropilică a acizilor abietinici, arată că rezistența mycobacteriilor nu se dezvoltă. Sensibilitatea bacilului *Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Rv$ după 8 treceri

nu se modifică iar sensibilitatea bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* scade după 10 treceri de la 1/320 000 la 1/180 000, ceea ce practic este lipsit de interes.

În ceea ce privește respirația mycobacteriilor, ea este inhibată pînă la 100% de un număr redus de unități tuberculostatice (tabela 5).

Tabela 4

Încercări de antrenare la rezistență a *Mycobacterium tuberculosis* H_{37} *Rv* și a *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența rășinilor și a acizilor de tip abietinic, obținuți din conifere (*Picea excelsa*) și a aminei izopropilice a acestor acizi

	Mycobacterium tuberculosis H. Ratti			*Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Rv$		
	Rășina	Acizi de tip abietinic	Amina izopropilică	Rășina	Acizi de tip abietinic	Amina izopropilică
Sensibilitatea inițială a bacteriilor	1/320 000	1/320 000	1/320 000	1/560 000	1/320 000	1/560 000
Nr. trecerilor	10	10	10	8	8	8
Sensibilitatea după 8 și 10 treceri	1/180 000	1/180 000	1/180 000	1/560 000	1/320 000	1/560 000

Tabela 5

Valorile medii ale activității respiratorii a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența rășinilor și a acizilor de tip abietinic (extrași din *Picea excelsa*) și amina izopropilică a acestor acizi, după două ore de contact

	Concentrația γ/cm^3	Respirația microbiană % față de martor
Picea excelsa rășină	10	— 7,7
	40	—42,0
	100	—76,6
	400	—76,0
Picea excelsa acizi de tip abietinic	10	+ 6
	40	— 60
	100	—100
	400	—100
Picea excelsa amina izopropilică	10	— 21
	40	— 51
	100	—100
	400	—100

CONCLUZII

Cercetările asupra unor căi de inhibare a adaptării germenilor și dezvoltării rezistenței microbiene la antibiotice și substanțe chimioterapice, duc la următoarele concluzii:

— Există o corelație între raportul dintre pragul acțiunii tuberculicide și cel al acțiunii tuberculostatice a antibioticelor și substanțelor chimioterapice și gradul de inhibare a respirației microbiene și o corelație

între gradul de inhibare a respirației și dezvoltarea rezistenței germenilor la aceste substanțe.

— Rezultate pozitive în inhibarea dezvoltării rezistenței microbiene, par a se obține mai greu cu substanțe cu activitate bacteriostatică înaltă decît cu substanțe cu toxicitate redusă și o activitate bactericidă apropiată de cea bacteriostatică.

— Substanțele cu activitate tuberculicidă apropiată de cea tuberculostatică inhibă total, în prezența unor doze reduse, respirația germenilor, adaptarea lor la substața chimioterapică folosită și dezvoltarea rezistenței microbiene.

— De aici se desprinde ideea inhibării dezvoltării rezistenței microbiene prin introducerea în molecula substanțelor cu acțiune tuberculostatică a unor substanțe cu grupe chimice ce inhibă puternic activitatea respiratorie a germenilor.

Prezentată la redacție la 18 februarie 1960

Colectivul de chimioterapie
al Academiei R.P.R., București

К ИЗУЧЕНИЮ НЕКОТОРЫХ ПУТЕЙ ТОРМОЖЕНИЯ РАЗВИТИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

РЕЗЮМЕ

Исследование некоторых путей подавления адаптации патогенных микроорганизмов и развития устойчивости к антибиотикам и химиотерапевтическим веществам приводит к следующим выводам.

— Существует корреляция в соотношении между порогами туберкулицидного и туберкулостатического действия антибиотиков и химиотерапевтических веществ и степенью подавления дыхания микобактерий, а также корреляция между степенью подавления дыхания и степенью развития микробной резистентности к этим веществам.

— В подавлении развития микробной резистентности положительные результаты получаются, по-видимому, труднее при использовании химиотерапевтических веществ с высоким бактериостатическим действием, чем при использовании веществ с низкой токсичностью и бактерицидным действием, близким к бактериостатическому.

— Химиотерапевтические вещества, обладающие туберкулицидным действием, близким к туберкулостатическому, полностью подавляют, при незначительных дозах, бактериальное дыхание, адаптацию микробов к этим веществам и развитие микробной резистентности.

— Отсюда вытекает мысль о подавлении развития микробной резистентности путем введения в молекулу химиотерапевтических веществ с туберкулостатическим действием некоторых других веществ с химическими группами, обладающих сильным подавляющим действием на дыхание патогенных микроорганизмов.

RECHERCHES SUR QUELQUES VOIES D'INHIBITION DU DÉVELOPPEMENT DE LA RÉSISTANCE MICROBIENNE

RÉSUMÉ

Les recherches faites sur quelques voies d'inhibition de l'adaptation des germes et du développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et aux substances chimiothérapiques mènent aux conclusions suivantes :

— Il existe une corrélation entre le rapport des niveaux d'activité tuberculicide et tuberculostatique des substances et le degré d'inhibition de la respiration microbienne ainsi qu'une corrélation entre le degré d'inhibition de la respiration des germes et le développement de la résistance microbienne pour ces substances.

— Il semble que, dans les essais d'inhiber le développement de la résistance microbienne, les résultats positifs s'obtiennent moins avec des substances à haute activité bactériostatique qu'avec des substances à toxicité réduite et qui possèdent une action bactéricide proche de celle bactériostatique.

— Les substances qui possèdent une action tuberculicide proche de l'action tuberculostatique inhibent totalement — à faibles doses — la respiration des germes, leur adaptation à la substance chimiothérapique employée et le développement de la résistance microbienne.

— Ces données mènent à l'hypothèse d'obtenir l'inhibition du développement de la résistance microbienne par l'introduction, dans la molécule des substances tuberculostatiques, de certaines substances possédant des groupes chimiques qui inhibent puissamment l'activité respiratoire des germes.

BIBLIOGRAFIE

1. DUNNER W., BROWN B., Diseases of the Chest, **4**, 438 (1951).
2. FINLAND M., MURRAY E., Journal of the American Medical Association, **132**, 16 (1948).
3. GRAESLE D. E., Proceedings of the American Society for Experimental Biology and Medecine, **63**, 171 (1946).
4. ХЕРМАНОВА В. Е., ЛЕВИТОВА Е. А., Антибиотики, Изд. ин. лит., 7 (1948).
5. MILLER C. P., BOHNHOFF M., Journal of the American Association, **131**, 485 (1946).
6. KLEIN M., Journal of Bacteriology, **53**, 463 (1947).
7. KLIMEK J. V., CAVALITTO G.E., BAILEY I. R., Journal of Bacteriology, **55**, 139 (1948).
8. SCHNITZER R., GRUMBERG E., *Drug resistance of microorganisms*. Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1957.
9. СОЛОВЬЕВА И. В., Совр. проблемы туберкулеза, **3**, 3 (1958).
10. OERIU S., *Contribuţiuni la studiul chimioterapiei tuberculozei experimentale la cobai*. Ed. Acad. R.P.R., 1949, **I**.
11. — *Contribuţiuni la studiul chimioterapiei tuberculozei experimentale şi umane cu sulfosalicilat-aliltiocianat-streptomicină*. Ed. Acad. R.P.R., 1951, **II**.
12. — Buletin ştiinţific, sectia şt. med., *1*, 55 (1954).
13. — *Beiträge zum Studium der Resistenz von Mycobacterium tuberculosis gegenüber chemotherapeutischen Substanzen*. Farmaceutické Symposium, Praha, 3—7 IX 1956, supl., 18.

14. Рябухин А. Е., Проблемы туберкулеза, *5*, 3 (1953).
15. Стукалова Б. И., Антибиотики, Изд. ин. лит., 6 (30), 3 (1954).
16. Калниниш А. И., Шмидт А. А., *Фурацилин и опыт его применения.* Акад. Наук ЛССР, Рига, 1953.
17. Вайсберг Г. Е., Антибиотики, Изд. ин. лит., **5**, 15 (1954)
18. Hobby H., Amer. Rev. Tuberc., **27**, 4 (1949).
19. Viaillier J., Cayré M., C. R. Soc. Biol., **147**, 789 (1953).
20. Kourilsky M., Thérapie, **9**, *3* (1954).
21. Welch P., Randall B. J., Journ. Amer. Pharm. Assoc., **39**, *9*, 483 (1950).
22. Oeriu S., Gheorghe A., Tigheciu M., Studii și cercetări de biochimie, **II** *1*, 25 (1959).
23. Oeriu S., Voinescu M., Lupu E., Oeriu I., Wechsler B., Comunicările Acad. R.P.R., **IV**, *11—12*, 797 (1954): Buletin științific, secția șt. medicale, **VII**, *2*, 557 (1956).
24. Щукина М. Н., Першин Г. М., Макеева О. О., Доклады Акад. Наук СССР, **84**, *5*, 981 (1952).
25. Щукина М. Н., Сазонова Е. Д., Першин Г. Н., Проблемы туберкулеза, *2*, 44 (1954).
26. Bavin E. M., Drain D. I., Seiler H. I., Seymour D. E., J. Pharm., *11*, 844 (1952).
27. Offe H., Siefken W., Domagk G., Zentralblatt, *4*, 553 (1953).
28. Oeriu S., *Biochemie der Kulturpflanzen.* Akad. Verlag, Berlin, 1956, **I**, 214.
29. — *A patra sesiune științifică a Institutului de medicină și farmacie.* București, 1958, 314.
30. Oeriu S., Moga V., Bertescu L., Mircea B., Benesch H., Crăcea M., Carp N., Tigheciu M., Studii și cercetări de chimie, **VI**, *2*, 263 (1958).
31. Oeriu S., Moga V., Bertescu L., Mircea B., Benesch H., Crăcea M., *XVI-ème Congrès International de Chimie Pure et Appliquée*, Paris, juillet 1957, *Résumés des Communications*, **II**, *Division de Chimie Organique*, 229.
32. Oeriu S., Moga V., Bertescu L., Mircea B., Benesch M., Crăcea M., Carp N., Tigheciu M., Revue de Chimie, Ed. Acad. R.P.R., **IV**, *1*, 41 (1959).

STUDIUL DREPTELOR ARRHENIUS ÎN CAZUL FOSFOMONOESTERAZEI ERITROCITARE

DE

L. M. BURUIANĂ şi E. HADARAG

Anumite aspecte ale cineticii fosfomonoesterazei eritrocitare au fost expuse în lucrările anterioare [4], [5].

În continuarea cercetărilor, semnalăm în prezenta lucrare o particularitate a dreptelor Arrhenius ale aceleiaşi enzime şi modificările care decurg cu privire la valoarea unor funcţii termodinamice ale sistemului enzimatic considerat.

Conform celor stabilite de S. Arrhenius [1] şi verificate ulterior de numeroşi cercetători, între viteza unei reacţii enzimatice şi temperatura la care aceasta se petrece, există o relaţie de forma

$$4{,}58 \log K_v = \mu \cdot 1/T, \qquad (1)$$

în care

K_v — constanta vitezei de reacţie în mol · s^{-1},
μ — energia de activare în cal · mol^{-1},
T — temperatura absolută.

Termenul μ desemnează energia de activare a moleculelor care reacţionează. Valoarea lui este semnificativă pentru aprecierea calităţii enzimelor şi reprezintă incrementul energiei libere a sistemului considerat. Cu cît această energie de activare este mai mică cu atît calitatea enzimei este mai bună.

Determinarea lui μ se poate face pe cale grafică deoarece, după cum rezultă din relaţia (1), acest factor reprezintă panta dreptei trasate cu ajutorul datelor experimentale într-un sistem de coordonate în care pe abscisă sînt trecute valorile $1/T$ iar pe ordonată cele corespunzătoare $\log K_v$. Această metodă este mai exactă decît metoda de calcul iar valoarea obţinută pentru μ nu depinde de puritatea enzimei [7].

Relaţia lui Arrhenius se verifică de obicei pentru temperaturi care nu alterează integritatea enzimei respective. O. Bodansky [2]

confirmă acest fapt în cazul fosfatazei alcaline din oase. În cazul fosfomonoesterazei eritrocitare s-a constatat însă o discontinuitate a dreptelor, fapt care pune în evidenţă o particularitate a acestei enzime şi atrage o serie de consecinţe, expuse în cele ce urmează.

MATERIAL ŞI METODĂ DE LUCRU

S-a utilizat ca sursă de enzimă fosfomonoesteraza acidă (optim de pH = 4,8) eritrocitară a cîtorva specii de animale.

Modul de obţinere a soluţiilor enzimatice nepurificate şi determinarea activităţii s-au făcut conform tehnicii descrise anterior [4]. Limita temperaturilor la care s-a măsurat activitatea enzimatică a oscilat între 0 şi 40°C, pentru a fi siguri că nu se produce denaturarea prin căldură a proteinei enzimatice.

Cercetările de sondaj făcute au arătat că şi între 40 şi 45°C relaţia lui Arrhenius se verifică, ceea ce exclude posibilitatea modificării structurale a enzimei în limitele de temperatură pentru care s-a experimentat.

REZULTATELE OBŢINUTE

În figura 1 sînt reprezentate dreptele Arrhenius în cazul fosfomonoesterazei eritrocitare a unor specii de animale.

Dreptele prezintă o discontinuitate bruscă pentru temperaturi care variază de la 16 pînă la 20°C în cazul speciilor cercetate. S-a denumit temperatură de frîngere, t_F, temperatura pentru care se produce discontinuitatea. Existenţa discontinuităţii atrage după sine şi variaţia bruscă a unor funcţii termodinamice care caracterizează activitatea catalitică a enzimei respective. S-au calculat deci aceste valori.

Tabela 1

Valorile energiilor de activare μ_1 şi μ_2

Specia	t_F °C	μ_1 cal. mol^{-1}	μ_2 cal. mol^{-1}
Om	16,4	34,000	7,369
Oaie	20,0	28,666	9,090
Vacă	20,0	54,500	6,000
Cal	16,0	20,416	7,224
Cîine	19,4	12,500	7,307

Calculul energiei de activare. Din cauza discontinuităţii dreptelor Arrhenius rezultă că trebuie să existe două energii de activare : μ_1 — pentru temperaturi mai mici decît t_F şi μ_2 — pentru temperaturi mai mari decît t_F. Valorile obţinute în cazul speciilor cercetate sînt indicate în tabela 1.

Valorile lui μ_2, spre deosebire de μ_1, sînt mult mai apropiate între ele.

Calculul entropiei de activare. O particularitate a reacțiilor enzimatice este aceea că, spre deosebire de reacțiile chimice obișnuite, entropia lor de activare scade apreciabil.

Faptul corespunde apariției unor legături noi care îngrădesc libertatea sistemului. Pentru a ne da seama de reactivitatea complexului

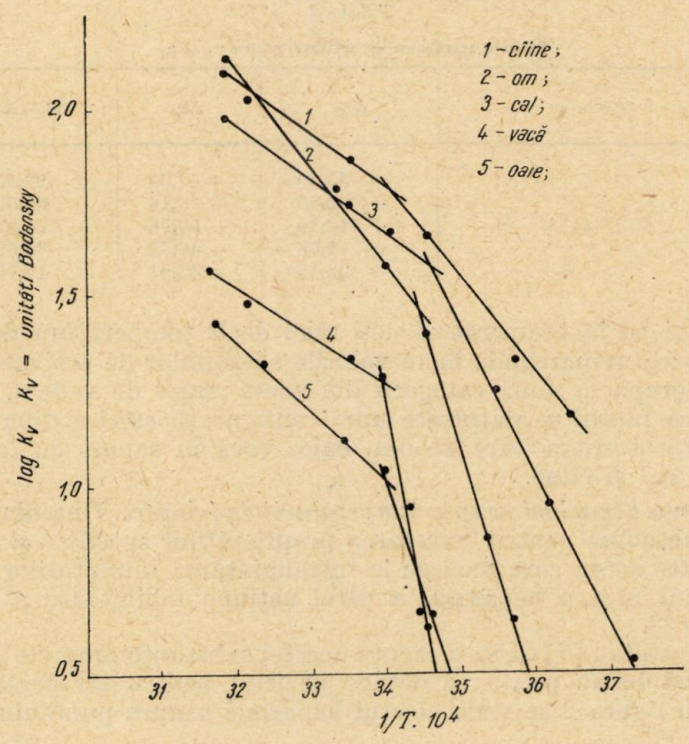


Fig. 1. — Dreptele Arrhenius ale fosfomonoesterazei eritrocitare la unele specii de animale.

enzimă-substrat și de modificările care survin în jurul temperaturii de frîngere t_F s-a calculat valoarea entropiei de activare corespunzătoare lui μ_1 și μ_2 cu ajutorul relației

$$K_v = K_t \cdot k \cdot T/h \cdot e^{\Delta S/R} \cdot e^{-\mu/RT}, \qquad (2)$$

în care

K_v — constanta vitezei de reacție în mol . s^{-1},
K_t — coeficientul de transmisie, reprezentînd probabilitatea ca moleculele activate să poată depăși bariera de potențial și care în reacțiile adiabatice care nu implică modificarea structurii electronice, are o valoare apropiată de 1,
k — constanta lui Boltzman, 1,3805 . 10^{-16} erg . $grad^{-1}$,
h — constanta lui Planck, 6,6242 . 10^{-27} erg . s,

ΔS — entropia de activare, cal . $grad^{-1}$. mol^{-1},
T — temperatura absolută,
R — constanta gazelor, 8,3144 . 10^7 erg . $grad^{-1}$. mol^{-1}.

Valorile obţinute din datele experimentale sînt indicate în tabela 2.

Tabela 2

Valorile entropiilor de activare pentru μ_1 şi μ_2

Specia	ΔS_1	ΔS_2	$\Delta S_2 - \Delta S_1$
Om	+ 45,10	— 47,00	92,10
Oaie	+ 23,45	— 43,14	66,59
Vacă	+ 118,16	— 50,76	168,92
Cal	— 1,06	— 46,72	45,66
Cîine	— 28,15	— 45,91	17,76

Rezultă că la temperaturi mai mici decît temperatura de frîngere există diferenţe remarcabile între valorile entropiilor de activare, speciile putîndu-se grupa în două categorii din acest punct de vedere. Se poate presupune că faptul se datoreşte unei configuraţii sterice diferite a fosfomonoesterazei eritrocitare de om, oaie, vacă în raport cu fosfomonoesteraza de cal şi cîine.

Influenţa heparinei asupra temperaturii de frîngere. Una din metodele cele mai fructuoase pentru cercetarea proprietăţilor specifice şi structurii enzimelor este aceea care recurge la întrebuinţarea inhibitorilor. Am utilizat în cazul nostru heparina, a cărei acţiune inhibitoare a fost deja semnalată [3].

S-a constatat [5] că în prezenţa acestei substanţe dreptele Arrhenius îşi inversează brusc panta (μ devine pozitiv) pentru temperaturi mult mai mici. În figura 2 se vede efectul heparinei asupra punctului de frîngere t_F.

Rezultă că heparina modifică apreciabil atît valoarea lui t_F cît şi a energiilor de activare. Valorile entropiei se schimbă de asemenea, aşa cum se vede din tabela 3.

Tabela 3

Modificarea entropiilor de activare sub influenţa heparinei

Specia	Fără heparină			Cu heparină		
	ΔS_1	ΔS_2	$\Delta S_2 - \Delta S_1$	ΔS_1	ΔS_2	$\Delta S_2 - \Delta S_1$
Cal	+ 1,97	— 40,80	42,86	— 16,03	— 61,53	45,53

Efectul heparinei se manifestă deci prin :

1. deplasarea temperaturii de frîngere de la 17 la 24,6°C, adică o creştere a t_F,

2. scăderea energiei şi entropiei de activare,
3. dezactivarea prematură a complexului enzimă-substrat (inversarea semnului energiei de activare).

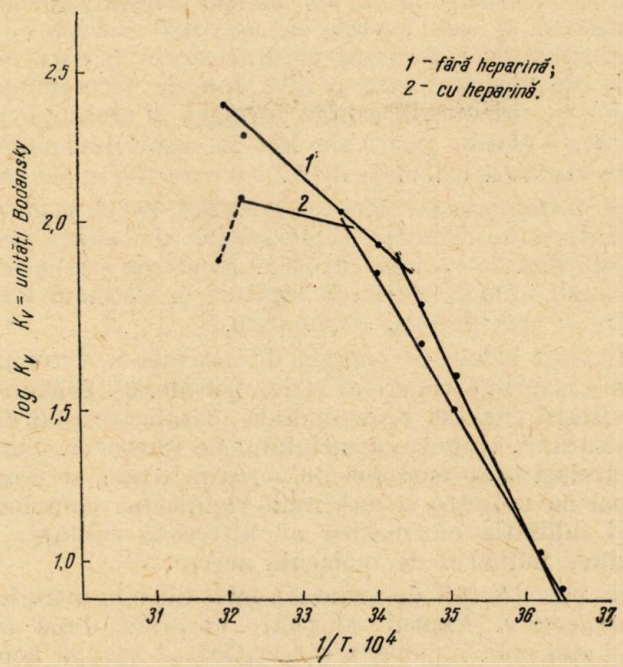


Fig. 2. — Efectul heparinei asupra dreptelor Arrhenius în cazul fosfomonoesterazei eritrocitare de cal.

Energiile de activare fără heparină
$\mu_1 = 21{,}000$ cal . mol^{-1},
$\mu_2 = 8{,}571$ cal . mol^{-1}.
Energiile de activare, cu heparină
$\mu_1 = 16{,}000$ cal . mol^{-1},
$\mu_2 = 2{,}500$ cal . mol^{-1}.

DISCUŢII

Dreptele Arrhenius sînt un mjiloc comod de a urmări variaţia energiei de activare cu temperatura. Energia de activare pe de altă parte măsoară variaţia energiei libere şi deci capacitatea de reacţie a unui sistem material oarecare. În cazul enzimelor, variaţia energiei libere se datoreşte formării complexului enzimă-substrat şi constituie o măsură de apreciere a intensităţii procesului catalitic. De cele mai multe ori, între limite de temperatură compatibile cu integritatea moleculei proteice, energia de activare este o constantă. Se cunosc, totuşi, cazuri cînd apar şi discontinuităţi, însoţite de variaţii brusce ale energiei de activare. Se admite că salturile se datoresc modificărilor sterice ale com-

ponentei proteice, ceea ce schimbă afinitatea dintre enzimă şi substrat. Interesantă este constatarea că aceste salturi coincid cu modificarea activităţii fiziologice la care participă enzima respectivă.

Cercetările efectuate arată că fosfomonoesteraza face parte din categoria enzimelor la care energia de activare variază cu temperatura şi că proteina enzimatică suferă restructurări sterice în cazul acestei enzime.

Entropia de activare este o altă funcţie termodinamică care în cazul enzimelor ne orientează asupra formării şi stabilităţii complexului enzimă-substrat. Valorile găsite de noi în cazul fosfomonoesterazei se încadrează între limitele calculate de A. S t e a r n [8] pentru alte enzime.

În cazul fosfomonoesterazei se constată că şi pentru acest parametru temperatura de frîngere t_F constituie un punct nodal, entropia de activare suferind o variaţie bruscă. Scăderea observată se explică prin apariţia unui număr sporit de legături în sistemul enzimă-substrat deci, o sporire a specificităţii enzimatice.

Sub influenţa heparinei energia de activare a sistemului se micşorează, fapt care la prima vedere ar părea paradoxal. Scăderea corespunde ameliorării calităţii enzimei deci tendinţei catalizatorului de a se opune acţiunii inhibitorului, conform principiului Le Chatelier. Ţinînd seama de faptul că în acelaşi timp entropia de activare scade, se poate trage concluzia că heparina măreşte şi mai mult rigiditatea complexului enzimă-substrat, deci inhibiţia enzimatică nu alterează calitatea fosfomonoesterazei ci reduce numărul de molecule active.

Scăderea poate fi atît de avansată încît duce la întreruperea reacţiei enzimatice respective. Faptul se poate constata după forma dreptei Arrhenius în cazul cînd în soluţia enzimatică se adaugă heparină (fig. 2, curba *2*). Panta dreptei se inversează brusc în jurul temperaturii de 37°C ceea ce corespunde dispariţiei rapide a moleculelor active, enzimă-substrat.

Valoarea entropiei de activare este minimă în acest moment. Rezultă că din punctul de vedere al cineticii enzimatice inhibiţia reduce energia de activare a sistemului îngrădindu-i concomitent posibilităţile de reacţie. Din punct de vedere fiziologic se deduce că inhibiţia ameliorează calitatea enzimelor sporindu-le specificitatea, bineînţeles în detrimentul numărului de molecule activate, ceea ce scoate în evidenţă rolul inhibitorilor în dirijarea reacţiilor din organismele vii.

CONCLUZII

1. Trasînd dreptele termice Arrhenius în cazul fosfomonoesterazei eritrocitare nepurificate, se constată că prezintă discontinuitate pentru diferitele specii cercetate, între 16 şi 20°C.

2. Calculînd energia şi entropia de activare înainte şi după punctul de frîngere t_F (temperatura la care se produce discontinuitatea), reiese că funcţiile termodinamice prezintă un salt calitativ în acest punct.

Faptul ar corespunde la o modificare stereospecifică a proteinei enzimatice.

3. Modificările produse de heparină, inhibitor al fosfomonoesterazei eritrocitare, asupra dreptelor Arrhenius și asupra funcțiilor termodinamice demonstrează că acțiunea inhibitoare se datorește, în acest caz, nu micșorării gradului de activare al complexului enzimă-substrat, care în realitate crește, ci probabil, scăderii numărului de molecule active. Procesul de dezactivare se manifestă prin inversarea bruscă a semnului valorii energiei de activare, așa cum reiese din aspectul dreptelor Arrhenius ale fosfomonoesterazei inhibate cu heparină.

Prezentată la redacție la 24 noiembrie 1959

Catedra de chimie biologică,
Facultatea de medicină veterinară, București

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЯМЫХ АРРЕНИУСА В СЛУЧАЕ ЭРИТРОЦИТНОЙ ФОСФОМОНОЭСТЕРАЗЫ

РЕЗЮМЕ

В продолжение исследований по кинетике эритроцитной фосфомоноэстеразы авторы начертили термические прямые Аррениуса.

Было установлено, что эти прямые представляют прерывность для известной температуры, которая для исследуемых видов колеблется между 16—20°С. Значение термодинамических функций, энергии активации и энтропии активации представляет качественный скачок для этой температуры (t_F).

Гепарин, являющийся ингибитором эритроцитной фосфомоноэстеразы оказывает специфическое влияние как на значение t_F, повышая ее, так и на другие термодинамические параметры. В свете установленных фактов авторы высказывают соображения относительно механизма энзиматического торможения.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Прямые Аррениуса эритроцитной фосфомоноэстеразы у некоторых видов животных.

Рис. 2. — Эффект, оказываемый гепарином на прямые Аррениуса в случае эритроцитной фосфомоноэстеразы у лошадей.

Энергии активации без гепарина
$\mu_1 = 21{,}000$ кал. мол$^{-1}$
$\mu_2 = 8{,}571$ кал. мол$^{-1}$

Энергии активации с гепарином
$\mu_1 = 16{,}000$ кал. мол$^{-1}$
$\mu_2 = 2{,}500$ кал. мол$^{-1}$.

ÉTUDE DES DROITES D'ARRHENIUS POUR LA PHOSPHOMONO-ESTÉRASE ÉRYTHROCYTAIRE

RÉSUMÉ

Poursuivant leurs recherches sur la cinétique de la phosphomono-estérase érythrocytaire, les auteurs ont tracé les droites thermiques d'Arrhenius.

Ils ont constaté que celles-ci accusent une discontinuité à une certaine température qui, pour les espèces étudiées, oscille entre 16 et 20°. La valeur des fonctions thermodynamiques, énergie d'activation et entropie d'activation, présente un saut qualitatif à cette température (t_F).

L'héparine — un inhibiteur de la phosphomono-estérase érythrocytaire — influence d'une façon spécifique tant la valeur de la température d'inflexion, qui augmente, que les autres paramètres thermodynamiques. En raison de ces constatations, les auteurs émettent certaines considérations sur le mécanisme d'inhibition enzymatique.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Les droites d'Arrhenius pour la phosphomono-estérase érythrocytaire chez certaines espèces animales.

Fig. 2. — Action de l'héparine sur les droites d'Arrhenius pour la phosphomono-estérase érythrocytaire de cheval.

Energies d'activation, sans héparine
$\mu_1 = 21{,}000$ cal . mole^{-1},
$\mu_2 = 8{,}571$ cal . mole^{-1}.

Energies d'activation, avec héparine
$\mu_1 = 16{,}000$ cal . mole^{-1},
$\mu_2 = 2{,}500$ cal . mole^{-1}.

BIBLIOGRAFIE

1. ARRHENIUS S,, *Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker.* Z. Phys. Chem. IV, **226** (1889).
2. BODANSKY O,, *The energy of activation of the hydrolysis of sodium phosphate by bone phosphatase at optimum pH.* J. Biol. Chem., **129**, 197 (1939).
3. BURUIANĂ L. M., *L'action de l'héparine sur les phosphatases.* Naturwiss., **10**, 306 (1957).
4. BURUIANĂ L. M., HADARAG E., VARACHIU, N., *Modificarea activităţii fosfomonoesterazei eritrocitare la cal în urma efortului.* Studii şi cercetări de biochimie, **I**, *2*, 115 (1958).
5. BURUIANĂ L. M., HADARAG E., *La nature de l'inhibition de l'héparine sur la phosphatase acide érythrocytaire.* Naturwiss., **12**, 293 (1958).
6. BURUIANĂ L., HADARAG E., VARACHIU N., *Acţiunea unor efectori asupra activităţii monoesterazei eritrocitare.* Studii şi cercetări de biochimie, **II**, *2*, 129 (1959).
7. SIZER I. W., *Effects of temperature on enzyme kinetics.* Advances in Enzymology, **III**, 35 (1943).
8. STEARN A. E., *The theory of absolute reaction rates applied to enzyme catalysis.* Ergeb. der Enzymforsch., **VII**, 1 (1938).

INFLUENȚA IRADIERII LOCALE A ȘOBOLANILOR ASUPRA CONȚINUTULUI ÎN ACIZI NUCLEICI DIN ȚESUTURILE NEIRADIATE

DE

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ și M. SPIRIDON

În momentul de față a început să se contureze din ce în ce mai clar ideea că în apariția modificărilor metabolice produse sub acțiunea radiațiilor ionizante se manifestă evident rolul pe care anumite organe îl au în inducerea efectului radiobiologic.

Importanța reacției locale în producerea efectului radiobiologic a fost pusă în evidență de diferiți autori prin urmărirea timpului de supraviețuire a animalelor iradiate. Datele acumulate pînă în prezent sînt oarecum contradictorii, căci dacă toți autorii sînt de acord că iradierea totală are efectele toxice cele mai puternice, în privința efectului iradierii locale părerile sînt împărțite: N. Denis și L. C. Martin [1] consideră că boala de iradiere apare numai la iradierea abdomenului; L. Lamerton, A. L. Elson și B. E. Harris [2] constată că protecția capului în timpul iradierii generale produce o reacție actinică mai atenuată. Semnificative sînt contribuțiile lui G. M. Frank [3] în această problemă, bazate pe urmărirea unor probe funcționale și fiziologice la iradierea diferitelor regiuni ale corpului. Deși aceste teste nu permit aprecierea cantitativă a efectului iradierii, ele au pus în evidență că iradierea creierului induce modificări asemănătoare celor observate la iradierea generală, dar care sînt mai tardive și mai puțin pronunțate.

În studii de protecție chimică la radiații, U. Hagen, H. Ernst și H. Langendorff [4], cercetînd radioleziunile ficatului, splinei și timusului cu ajutorul cisteaminei folosită ca radioprotector, au pus în evidență faptul că ficatul apare ca organul cel mai bine protejat, ceea ce îi permite inducerea proceselor de regenerare în țesuturile radiosensibile. Pe de altă parte, cercetările noastre [5] ne-au dus la concluzia că asocierea AET cu un inhibitor al sistemului nervos (largactil) permite atenuarea puternică a efectului radiobiologic în creier, fapt care are

influență și asupra celorlalte organe. Am constatat în cadrul acelei lucrări că în condițiile noastre experimentale, efectul protector în creier se manifestă imediat, în ficat după 48 ore și în splină după 3—5 zile, fapt care ne-a permis să tragem concluzia rolului pe care îl are sistemul nervos în inducerea proceselor de restaurare în restul organismului.

Lucrarea de față reprezintă o continuare a cercetărilor noastre, cu scopul de a verifica ipoteza amintită cu ajutorul altor modele experimentale și anume : ne-am propus să urmărim acțiunea radiațiilor ionizante asupra organismului la iradierea locală a anumitor organe, cercetînd modificările produse „la distanță" adică în țesuturile neiradiate ale aceluiași animal. Am considerat că punerea în evidență a unui efect radiobiologic, diferit după localizarea acțiunii radiațiilor, va contribui la cunoașterea mecanismului intim de producere a fenomenului și la găsirea celor mai potrivite măsuri de protecție față de acțiunea nocivă a radiațiilor.

În aceste cercetări, pentru a aprecia cantitativ efectul radiobiologic asupra organismului, am ales același test ca în experiențele anterioare, anume urmărirea variațiilor cantitative ale acizilor nucleici, ținînd seama de faptul că aceste substanțe reprezintă un component sensibil la acțiunea radiațiilor iar modificările lor au un rol important în apariția bolii de iradiere.

Pe lîngă aceasta în studiile noastre a trebuit să căutăm condițiile cele mai potrivite pentru punerea în evidență a modificărilor imediate, precoce, înainte de apariția fenomenelor secundare legate de scăderea rezistenței la infecții a animalelor iradiate. Deoarece sub acțiunea dozelor terapeutice obișnuite de raze X acizii nucleici apar modificați după un oarecare timp de la iradiere, am considerat că utilizarea dozelor foarte mari de radiații va accelera producerea leziunilor tisulare, permițînd punerea în evidență a unor modificări timpurii induse în țesuturi, chiar la distanță de locul iradierii. Pentru acest motiv, în lucrarea de față, am utilizat doze mari de radiații (70 000 r).

Am urmărit în cercetări dacă la iradierea locală a unui anumit țesut, sinteza acizilor nucleici este modificată în organele care n-au fost iradiate. La teleiradierea cu doze minime letale a întregului organism s-a observat în diferite țesuturi o scădere a conținutului în acizi nucleici, variabilă în funcție de radiosensibilitatea țesuturilor și de intervalul dintre acțiunea radiațiilor și momentul dozării.

Tehnica de lucru. Experiențele au fost efectuate pe 85 șobolani albi, adulți, de greutate cuprinsă între 120 și 180 g, împărțiți în patru loturi : un lot de animale (25 șobolani) la care s-a iradiat capul, un lot la care s-a iradiat splina (25 șobolani) și alt lot la care a fost supus iradierii mușchiul coapsei (25 șobolani) ; al 4-lea lot, incluzînd 10 șobolani neiradiați, a servit ca martor. Iradierea s-a efectuat la aparatul Chaoul administrîndu-se doza integrală de 70 000 r. În timpul iradierii animalele au fost imobilizate prin legare pe un suport de lemn. După 1, 2, 3 și 24 ore de la iradiere, animalele au fost sacrificate, dozîndu-se acizii nucleici din creier, ficat, splină și mușchi. Paralel, au fost efectuate dozările pe

animale neiradiate. Acizii nucleici s-au extras din ţesuturi după metoda Schneider şi s-au dozat colorimetric, ARN cu orcină şi ADN cu difenilamină.

REZULTATE

Variaţiile ARN din creier (tabela 1). La iradierea creierului se observă, după 3 ore, o scădere cu 43% faţă de normal. Aceeaşi cantitate redusă am găsit-o şi după 24 ore. La iradierea splinei se constată o tendinţă de creştere a cantităţii de ARN în primele ore şi o scădere de 22% după 24 ore. Iradierea muşchiului produce scăderea ARN-ului după 3 şi 24 ore.

Variaţiile ADN din creier (tabela 1). Iradierea creierului are ca urmare o scădere treptată a ADN, ajungîndu-se pînă la 48% inhibiţie după 24 ore. Iradierea splinei sau a muşchiului nu induce modificări importante asupra sintezei ADN, în intervalul studiat.

Tabela 1

Variaţiile acizilor nucleici din creier, la iradierea diferitelor organe

Ore după iradiere	Normal	Iradierea creierului	Iradierea splinei	Iradierea muşchiului
		ARN g/100 g ţesut umed		
1	0,28±0,015	0,20±0,018	0,30±0,012	0,28±0,014
2		0,19±0,012	0,32±0,012	—
3		0,16±0,013	—	0,22±0,016
24		0,16±0,018	0,22±0,013	0,22±0,017
		ADN g/100 g ţesut umed		
1	0,26±0,009	0,18±0,010	0,25±0,010	0,26±0,013
2		0,16±0,009	0,27±0,011	—
3		0,15±0,007	—	0,24±0,007
24		0,13±0,010	0,26±0,010	0,23±0,008

Variaţiile ARN din ficat (tabela 2). Iradierea creierului produce o inhibiţie accentuată a sintezei ARN în ficat, chiar în prima oră după iradiere. Dozările efectuate după 2, 3 şi 24 ore arată de asemenea o cantitate scăzută de ARN. Dacă în locul creierului se iradiază splina sau muşchiul, scăderea accentuată a ARN se observă după 24 ore. Se semnalează că în cazul iradierii acestor organe modificările ARN din ficat sînt mai mici decît în cazul iradierii creierului.

Variaţiile ADN din ficat (tabela 2). Iradierea creierului induce o tendinţă de scădere a ADN în timp. Iradierea splinei nu produce modificări evidente asupra ADN din ficat. După 24 ore iradierea muşchiului induce o scădere a ADN din ficat, fapt care nu se observă în cazul iradierii splinei.

Variaţiile ARN din splină (tabela 3). Iradiind creierul, încă din prima oră cantitatea de ARN se reduce la 41% şi în tot intervalul studiat se observă valori foarte scăzute. Un fenomen care apare deosebit

Tabela 2

Variaţiile acizilor nucleici din ficat la iradierea diferitelor organe

Ore după iradiere	Normal	Iradierea creierului	Iradierea splinei	Iradierea muşchiului
		ARN g/100 g ţesut umed		
	0,82 ±0,025			
1		0,49±0,019	0,70±0,016	0,70±0,021
2		0,48±0,021	0,67±0,019	0,70±0,011
3		0,47±0,014	—	0,61±0,020
24		0,45±0,015	0,55±0,019	0,57±0,013
		ADN g/100 g ţesut umed		
	0,39±0,010			
1		0,33±0,015	0,39±0,016	0,38±0,010
2		0,32±0,013	0,39±0,017	0,38±0,013
3		0,32±0,013	—	0,38±0,012
24		0,31±0,017	0,40±0,010	0,28±0,017

de semnificativ este faptul că, la iradierea locală a splinei, cantitatea de ARN este mai puţin influenţată decît la iradierea creierului, o reducere importantă observîndu-se în acest caz abia după 24 ore. Iradierea muşchiului produce scăderea ARN din splină după 3 şi 24 ore.

Tabela 3

Variaţiile acizilor nucleici din splină la iradierea diferitelor organe

Ore după iradiere	Normal	Iradierea creierului	Iradierea splinei	Iradierea muşchiului
		ARN g/100 g ţesut umed		
	0,81±0,018			
1		0,48±0,019	0,77±0,020	0,80±0,019
2		0,54±0,017	0,74±0,019	0,77±0,021
3		0,50±0,021	—	0,57±0,020
24		0,41±0,020	0,44±0,019	0,52±0,022
		ADN g/100 g ţesut umed		
	1,16±0,10			
1		1,12±0,09	1,07±0,16	1,12±0,11
2		0,85±0,09	0,93±0,09	0,96±0,09
3		0,81±0,08	—	0,91±0,06
24		0,61±0,05	0,82±0,09	0,84±0,07

Variaţiile ADN din splină (tabela 3). ADN din splină începe să scadă după 2 ore de la iradierea creierului şi după 24 ore de la iradierea splinei sau a muşchiului. Ca şi în cazul ARN, la iradierea creierului se observă cea mai scăzută cantitate de ADN, efectul fiind net după 24 ore.

Variaţiile ARN din muşchi (tabela 4). La iradierea creierului, ARN scade chiar în prima oră după iradiere, ajungînd la 40% inhibiţie după 24 ore. La iradierea splinei se observă o tendinţă de creştere a cantităţii de ARN, mai ales după 24 ore. La iradierea muşchiului coapsei, deosebim două aspecte diferite ale sintezei ARN, unul în muşchiul iradiat şi altul în muşchiul neiradiat, al aceluiaşi animal. În prima oră, ARN nu se modifică în muşchiul iradiat, dar apare crescut în muşchinl neiradiat. Începînd din ora a 2-a conţinutul în ARN scade în proporţie de 44% în cazul muşchiului iradiat şi rămîne nemodificat în cazul muşchiului neiradiat. Scăderea se produce şi în cazul muşchiului neiradiat după 3 ore, menţinîndu-se şi după 24 ore.

Tabela 4

Variaţiile acizilor nucleici din muşchi la iradierea diferitelor organe

Ore după iradiere	Normal	Iradierea creierului	Iradierea splinei	Iradierea muşchiului	
				muşchiul iradiat	muşchiul neiradiat
		ARN g/100 g ţesut umed			
	0,26±0,019				
1		0,17±0,012	0,28±0,019	0,26±0,019	0,33±0,021
2		0,18±0,017	0,29±0,018	0,16±0,017	0,25±0,010
3		0,21±0,012	—	0,15±0,017	0,19±0,014
24		0,15±0,013	0,32±0,015	0,15±0,015	0,18±0,012
		ADN g/100 g ţesut umed			
	0,19±0,010				
1		0,14±0,010	0,19±0,011	0,18±0,012	0,19±0,014
2		0,12±0,011	0,19±0,010	0,16±0,012	0,18±0,015
3		0,12±0,019	—	0,14±0,013	0,15±0,012
24		0,06±0,011	0,16±0,012	0,08±0,011	0,10±0,013

Variaţiile ADN în muşchi (tabela 4). Ca şi în cazul ARN, cantitatea de ADN începe să scadă din prima oră, ajungînd după 24 ore la 70% inhibiţie. Iradierea splinei produce o oarecare influenţă asupra cantităţii de ADN abia după 24 ore. În muşchi, ADN scade după 24 ore în proporţie de 48% în muşchiul neiradiat şi 58% în muşchiul iradiat.

DISCUŢII

Efectele iradierii capului asupra altor ţesuturi au fost studiate de E. A. Dikovenko [6] în ceea ce priveşte metabolismul acizilor nucleici, constatîndu-se o legătură între gravitatea bolii de iradiere şi modificările acestor compuşi. Astfel, în timp ce iradierea capului cu 600 r nu modifică cantitatea de acizi nucleici din ficat şi splină, administrarea unei doze de 4 500 r, produce inhibiţia în special a acidului desoxiribonucleic din splină şi din măduva extremităţilor dar nu are influenţă asupra acizilor nucleici din ficat. M. A. Kuzin şi V. E. Budilova [7], iradiind capul cu 1 000 r, nu au găsit modificări ale includerii P^{32} din acizii nucleici ai splinei.

În cazul experienţelor noastre, reiese din analiza atentă a rezultatelor că acizii nucleici din ţesuturi încep să scadă, sub acţiunea iradierii locale, atît în ţesutul iradiat cît şi în ţesuturile de la distanţă. Scăderea se manifestă din prima oră după iradiere şi se accentuează în orele următoare, atingînd un prag destul de scăzut mai ales după 24 ore.

Datele din literatură arată că inhibarea sintezei acidului desoxiribonucleic sub acţiunea dozelor minime letale se produce în două valuri: primul începe după 1 pînă la 2 ore de la iradiere fiind urmat de o refacere a sintezei în toate ţesuturile; după faza de restaurare urmează o a doua scădere, care pare să fie definitivă şi care precede moartea animalului iradiat. Se remarcă că în cazul dozelor mari de radiaţii ionizante, cum sînt cele folosite de noi, chiar dacă iradierea este locală nu apare nici un fenomen temporar de restaurare, inhibiţia sintezei acizilor nucleici fiind definitivă. Mai mult, în aceste condiţii, ARN apare tot aşa de sensibil la iradiere ca şi ADN, despre care se ştie că sub acţiunea dozelor mici şi medii de radiaţii se modifică mult mai repede decît ARN.

Scăderea cantităţii de acizi nucleici în ţesuturile studiate trebuie privită sub două aspecte şi anume: în cazul iradierii locale avem de-a face în primul rînd cu o acţiune fizico-chimică directă, care produce depolimerizarea acizilor nucleici şi scindarea lor în componentele principale ca baze purinice şi pirimidinice, pentoze, acid fosforic; în ţesuturile neiradiate ale animalului iradiat local, apare o acţiune indirectă, ce se manifestă printr-un aşa-zis „efect la distanţă" [8]. În producerea acţiunilor la distanţă pot interveni sistemul nervos, glandele endocrine, transportul prin umori sau difuzia substanţelor antimitotice elaborate în ţesutul iradiat, care acţionează asupra diferitelor procese ce participă în sinteza acizilor nucleici [9].

Modificarea cantităţii de acizi nucleici se produce în toate ţesuturile studiate (creier, ficat, splină, muşchi) indiferent de organul care a fost iradiat, dar scăderea cea mai accentuată se observă la iradierea creierului. Influenţa iradierii creierului este atît de mare, încît în aceste cazuri efectul asupra acizilor nucleici din splină şi muşchi este chiar mai puternic decît la iradierea locală a acestor organe. Deşi creierul este considerat un organ radiorezistent — atunci cînd este studiat izolat şi nu în interrelaţie cu restul organismului — rezultatele obţinute în prezenta lucrare ne fac să-l considerăm foarte radiosensibil dacă privim ansamblul fenomenelor pe care iradierea lui le induce în restul organismului. Menţionăm că animalele iradiate la cap cu această doză au făcut o stare generală foarte proastă şi nu au supravieţuit mai mult de 28 de ore.

Relaţiile existente între organe datorită sistemelor integratoare amintite (sistem nervos, sistem endocrin etc.) explică modificările la distanţă provocate de o iradiere locală. Modificările fizico-chimice produse în creier sub influenţa radiaţiilor afectează cantitatea de acizi nucleici din creier, dar scad în aceeaşi măsură şi acizii nucleici din splină.

În ceea ce priveşte iradierea directă a splinei, organ radiosensibil, se constată că modificarea cantităţii de acizi nucleici este mai mare decît în organele considerate radiorezistente, cum sînt creierul sau muşchiul. Cu toată radiosensibilitatea recunoscută a splinei, iradierea ei produce

asupra ADN din creier modificări mai mici decît cele produse în splină la iradierea creierului. În ceea ce priveşte ARN experienţele au arătat că, la iradierea creierului, ARN din splină scade la jumătate după 24 ore, în timp ce la iradierea splinei ARN din creier începe să crească, probabil în urma împiedicării conversiei ribozei în desoxiriboză.

Dozarea acizilor nucleici din ficat, considerat ca organ radiorezistent, ne-a permis punerea în evidenţă a efectului iradierii creierului în inducerea bolii de iradiere. Astfel, se constată (tabela 2) că ARN din ficat scade considerabil chiar din prima oră după iradiere, dacă se iradiază creierul, dar efectul este mult diminuat şi tardiv dacă se supune iradierii splina sau muşchiul coapsei.

Rezultatele ne sugerează ipoteza de a defini o radiosensibilitate directă (datorită efectului radiobiologic direct) şi o radiosensibilitate indirectă(datorită efectului radiobiologic indirect). Putem, pe aceste baze, să admitem că splina este un organ cu radiosensibilitate directă şi radiorezistenţă indirectă iar creierul este un organ radiorezistent direct şi radiosensibil indirect — adică modificările locale în creier sînt mai puţin accentuate dar modificările la distanţă în alte organe sînt profunde.

Prezentată la redacţie la 7 ianuarie 1960

Laboratorul de enzimologie
al Institutului oncologic, Bucureşti

ВЛИЯНИЕ МЕСТНОГО ОБЛУЧЕНИЯ КРЫС НА СОДЕРЖАНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В НЕОБЛУЧЕННЫХ ТКАНЯХ

РЕЗЮМЕ

Авторы изучали действие ионизирующих облучений на крыс, в случае местного облучения определенных органов и исследовали изменения содержания нуклеиновых кислот в необлученных тканях.

При облучении мозга дозами до 70 000 г отмечается уменьшение содержания АДК и РНК в мозгу, печени, селезенке и в мышечной ткани. Это явление наблюдается через 1—2 часа после облучения и усиливается через 24 часа.

При облучении селезенки, содержание РНК в мышечной ткани повышается, тогда как в селезенки печени и в мозгу оно уменьшается через 24 часа; содержание АДК в мозгу не изменяется, а в печени и мускулах понижается только через 24 часа, тогда как в селезенке понижается, начиная со второго часа.

При облучении мышцы отмечается уменьшение содержания нуклеиновых кислот во всех исследуемых тканях.

Наиболее значительное действие на содержание нуклеиновых кислот в необлученных тканях имеет место при облучении мозга.

L'INFLUENCE DES IRRADIATIONS LOCALES SUR LA TENEUR EN ACIDES NUCLÉIQUES DES TISSUS NON IRRADIÉS, CHEZ LE RAT

RÉSUMÉ

Les auteurs ont suivi les effets des irradiations ionisantes chez le Rat, lors de l'irradiation locale de certains organes, en étudiant les modifications subies par les acides nucléiques dans les tissus non irradiés.

Par suite de l'irradiation du cerveau, à raison de 70 000 r, on observe : une baisse des taux de l'ARN et de l'ADN, dans le cerveau, le foie, la rate et le muscle. La baisse apparaît au bout de 1 à 2 heures et est plus accentuée après 24 heures.

Lors de l'irradiation de la rate, le taux de l'ARN augmente dans le muscle tandis qu'il baisse dans la rate, le foie et le cerveau au bout de 24 heures ; le taux d'ADN du cerveau n'est pas modifié, il baisse dans le foie et dans le muscle seulement après un laps de temps de 24 heures et, dans la rate, dès la deuxième heure.

L'irradiation du muscle détermine la baisse des acides nucléiques dans tous les tissus étudiés.

L'effet le plus important sur les acides nucléiques des tissus non irradiés a été enregistré à la suite de l'irradiation du cerveau.

BIBLIOGRAFIE

1. N. DENIS, L. C. MARTIN, Amer. J. Med. Soc., **160**, 555 (1920).
2. L. LAMERTON, A. L. ELSON, B. E. HARRIS, Brit. J. Radiol., **26**, *311*, 568 (1953).
3. G. M. FRANK, *Lucrări cu izotopi şi radiaţii nucleare în biologie şi agricultură*. Ed. Acad. R.P.R., Analele rom.-sov., seria agrobiologie, **32**, *1—2*, 207 (1958).
4. U. HAGEN, H. ERNST, H. LANGENDORFF, Strahlentherapie, **107**, *3*, 426 (1958).
5. O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ, O. POPOVICI, Gh. FURNICĂ, Studii şi cercetări de biochimie, **3**, *1*, 21 (1960).
6. Е. А. ДИКОВЕНКО, Медицинская радиология, **3**, *62*, 42 (1958).
7. М. А. КУЗИН, В. Е. БУДИЛОВА, Доклады Акад. наук СССР, **91**, *5*, 1883 (1953).
8. A. V. LEBEDINSKY, *Influence des rayonnements ionisants sur l'organisme animal*. Conf. intern. sur l'utilisation de l'énergie atomique à des fins pacifiques, Geneva, 1955.
9. Z. M. BACQ, Experientia, **7**, 11 (1951).

EVALUAREA STĂRII DE NUTRIȚIE PIRIDOXINICĂ

DE

A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, E. SEREDIUC, C. BĂLAN și M. D. MEZINCESCU

Piridoxina îndeplinește roluri importante în numeroase procese metabolice. Pe de altă parte, s-a stabilit în mod incontestabil că ea este o vitamină pentru om, ca și pentru animalele superioare. Totuși, la om nu s-a ajuns să se recunoască limpede simptomele deficienței de piridoxină — cu atît mai puțin să se contureze un sindrom specific corespunzînd acestei deficiențe. De fapt, nu se știe dacă există persoane care suferă de lipsa acestei vitamine, nici nu se știe cît de mare este nevoia de piridoxină a omului.

Cercetarea problemelor în legătură cu nevoia de piridoxină — de mare interes atît pentru igienist cît și pentru clinician — ar fi mult ușurată dacă s-ar putea evalua starea de saturație piridoxinică a organismului, cu ajutorul unui test asemănător celor folosite curent pentru cercetarea stărilor de nutriție tiaminică, riboflavinică și nicotinică. O serie de cercetători au urmărit, pe diferite căi, să pună la punct testuri similare pentru studiul stării de nutriție piridoxinică. Numai două din metodele propuse pot fi socotite utilizabile.

Una din ele se sprijină pe constatarea că la animalele carențate în piridoxină (șobolan, cîine și porc, printre altele) metabolismul triptofanului prezintă o alterare ce se manifestă prin excreția urinară de acid xanturenic — de unde propunerea să se evalueze starea de nutriție piridoxinică la om administrîndu-se persoanelor cercetate o doză-test de triptofan și determinîndu-se excreția subsecventă de acid xanturenic. Metoda s-a folosit însă în mică măsură, deoarece, pentru ca excreția de acid xanturenic să devină notabilă, trebuie să se administreze cantități considerabile de triptofan — 0,1 g/kg-corp după unii autori, doze totale de 10 g după alții — ceea ce face ca testul să fie foarte costisitor. Pe de altă parte, este îndoielnic dacă reacția organismului la ingerarea unor asemenea cantități de triptofan poate să fie socotită semnificativă.

A doua metodă, propusă de H. P. Sarett în 1951 [1], constă în dozarea excreției urinare de acid 4-piridoxic, după administrarea unei doze-test de piridoxină sau de piridoxal. Metoda pare mai bine funda-

mentată, căci acidul 4-piridoxic este principalul catabolit urinar al piridoxinei și al substanțelor înrudite (piridoxal, piridoxamină) și, desigur, este mai legitim să se aprecieze starea de nutriție piridoxinică urmărindu-se excreția acestui catabolit decît cercetîndu-se excreția acidului xanturenic, care se află în relații complexe și indirecte cu abundența piridoxinei în organism.

Potrivit datelor din literatură și testul recomandat de S a r e t t a fost folosit destul de rar. Într-o serie de anchete efectuate asupra felului cum sînt împlinite nevoile de unele vitamine din grupul B [2]—[6] nu am putut folosi acest test deoarece pentru dozarea acidului 4-piridoxic după metoda propusă de S a r e t t este nevoie de un fluorometru foarte sensibil (cu amplificare electronică) de care nu dispunem. Adăugăm că fluorometrele de acest tip se găsesc destul de rar, căci sînt deosebit de scumpe și se construiesc foarte greu în laboratoare.

Testul propus de S a r e t t prezintă și un alt neajuns principial, prin urmare mai important. Autorul nu aduce nici un fel de date care să justifice presupunerea, implicită, că între starea de nutriție (de saturație) piridoxinică a persoanei cercetate și excreția de acid 4-piridoxic după administrarea dozei-test există o relație constantă și semnificativă. El nu dovedește, prin urmare, că testul caracterizează valabil starea de nutriție.

Cercetările pe care le expunem prezintă trei aspecte. În primul rînd, am urmărit să facem testul lui Sarett mai abordabil, prin punerea la punct a unei tehnici permițînd dozarea acidului 4-piridoxic cu ajutorul fluorometrelor fotoelectrice cu citire directă, de tipul Cohen [7]. Pe de altă parte, cînd ne-am convins că putem doza corect acidul 4-piridoxic, am cercetat dacă nivelul excreției lui după administrarea unei doze-test de piridoxal caracterizează valabil starea de nutriție piridoxinică. O ultimă serie de cercetări a avut ca scop stabilirea nivelului răspunsurilor normale la testul lui Sarett în condițiile de alimentație prevalente în țara noastră, prin aplicarea testului la un grup de persoane sănătoase care se alimentau în mod obișnuit.

1. Modificarea metodei analitice

Nu este util să descriem aici în amănunt modul de lucru adoptat; cu unele modificări expuse mai departe, este, în esență, cel pus la punct de S a r e t t [1]. Pentru înțelegerea modificărilor, sînt necesare totuși unele precizări. Metoda propusă de Sarett se bazează pe lactonizarea acidului 4-piridoxic din urină și pe măsurarea fluorescenței lactonei; lactonizarea se face după cum urmează: un volum potrivit de urină (se va arăta ulterior cît de mare) este diluat la 5 ml într-o eprubetă, se adaugă 5 ml soluție HCl 2N și eprubeta este ținută într-o baie de apă fierbinte timp de 15 min; lichidul este răcit și diluat la 80 ml cu 70 ml soluție preparată prin amestecarea a 62 ml apă cu 8 ml soluție NaOH 1N. Pentru simplificarea expunerii, vom numi soluția obținută astfel *proba lactonizată*. Dozarea se continuă diluîndu-se 2 ml din această probă cu 8 ml soluție borat de sodiu 1% și măsurîndu-se fluorescența diluției (pe care o vom numi *proba fluorescentă*).

S a r e t t măsoară fluorescența cu un fluorometru Coleman model A12, folosind filtrele B-1 și PC-1. Aparatul este reglat la sensibilitatea maximă. Pentru o soluție de sulfat de chinină cuprinzînd 0,15 μg/ml el dă o lectură de circa 65 unități. Fluorometrul de care ne servim [8], cu filtrele Schott-Jena UG2 și GG5, dă pentru această soluție o deflecție maximă de numai circa 5 unități *). Prin urmare, era necesar să punem la punct o tehnică îngăduind efectuarea dozărilor cu ajutorul acestui fluorometru, de circa 10 ori mai puțin sensibil.

Desigur, puteam mări cantitatea de lactonă din proba fluorescentă în măsura corespunzătoare, mărind volumul de urină folosit pentru analiză și diluîndu-l mai puțin în operațiile prin care se prepară această probă. Însă, *a priori*, asemenea modificări nu păreau recomandabile, din motivele următoare :

1. Pe lîngă acid 4-piridoxic, urina mai cuprinde și alte substanțe care devin fluorescente, sau a căror fluorescență este crescută, în urma încălzirii în soluție acidă ; fluorescența lor (mai exact a derivaților) este considerabilă la pH-ul la care se măsoară fluorescența lactonei [1]. De fapt, S a r e t t propune evaluarea stării de nutriție piridoxinică cu ajutorul unui test de saturație numai pentru ca să poată evita interferența acestor substanțe, diluînd considerabil urina. Într-adevăr, urina obișnuită cuprinde cantități mici de acid 4-piridoxic și nu poate fi diluată îndeajuns în proba finală. În schimb, urina excretată după administrarea dozei-test este mai bogată în acid 4-piridoxic și poate fi diluată mai mult. Menționăm aici că S a r e t t folosește pentru dozările în urină obișnuită 1/500 din urina excretată în 24 ore iar pentru dozările în urină eliminată după administrarea dozei-test 1/2 000 din urina eliminată în 4 ore, deci, de 24 ori mai puțin.

2. S a r e t t prescrie ca soluția ce se fluorometrează, „proba fluorescentă", să fie preparată în condițiile stricte arătate mai înainte, pentru a avea o salinitate și o reacție bine determinate, așa încît fluorescența să se măsoare în condiții favorabile și perfect standardizate. Însă reducerea volumului final al probei lactonizate sau al probei fluorescente ar fi determinat modificarea acestor condiții și părea îndoielnic că aceste modificări ar fi admisibile.

Pentru a obține probe fluorescente îndeajuns de bogate în lactonă, după numeroase încercări, am introdus următoarele modificări ale metodei originale :

1. Folosim pentru dozări 1/1 000, sau fracțiuni apropiate, din urina eliminată în 4 ore după administrarea piridoxinei (în loc de 1/2 000).

2. După încălzire în baia de apă, soluția în care se face lactonizarea este diluată la 40 sau la 20 ml, în loc de 80 ml, după cum urina este mai bogată sau mai săracă în acid 4-piridoxic ; diluarea se face cu un volum de 8 ml soluție NaOH 1N, dus fie la 30 fie la 10 ml cu apă distilată. Datorită acestor modificări, cantitatea de lactonă din proba fluorescentă crește de 4 sau de 8 ori și putem doza corect, cu ajutorul fluorometrului

*) Unitățile (arbitrare) sînt diviziunile scalei pe care se citesc deflecțiile galvanometrului. Cu oarecare aproximație se poate aprecia pe scală 1/10 dintr-o diviziune.

de tip Cohen, acidul 4-piridoxic din urina emisă după administrarea dozei-test.

A. *Fluorescența lactonei în probele obținute în noile condiții este reproductibilă și proporțională cu concentrația lactonei.* Acestea rezultă din datele cuprinse în tabelele 1, 2 și 3 și din grafic (fig. 1).

În tabela 1 sînt indicate rezultatele unor experiențe efectuate în felul următor : *a*) un volum potrivit dintr-o soluție de lactonă este tratat

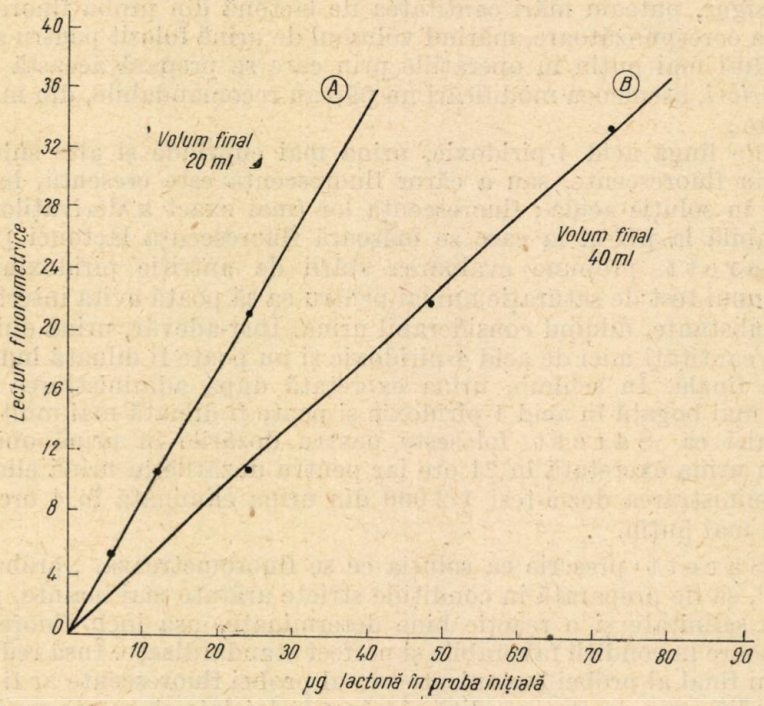


Fig. 1. — Proporționalitatea dintre concentrațiile și fluorescențele probelor de lactonă a acidului 4-piridoxic.

asemănător unei probe de urină, cu alte cuvinte este trecut prin etapele : obținerea probei lactonizate și obținerea probei fluorescente; *b*) se determină fluorescența acesteia din urmă ; *c*) toate operațiile se repetă de cîteva ori. S-au făcut experiențe de acest fel cu cantități de lactonă de la 6 la 72 μg. Din tabelă se constată că aceeași cantitate de lactonă dă totdeauna lecturi fluorometrice practic egale pentru același volum al probei lactonizate (20 sau 40 ml).

În grafic s-au înscris mediile lecturilor fluorometrice obținute pentru cantitățile de lactonă folosite în experiențele descrise. Lecturile sînt proporționale cu concentrațiile lactonei, într-un domeniu foarte larg. *Quenching*-ul apare numai pentru cantități de lactonă, în proba lactonizată de 40 ml, mai mari decît 72 μg (pentru 96 μg în seria noastră de încercări).

În tabelele 2 și 3 se dau rezultatele unor experiențe asemănătoare celor descrise anterior, însă în care lactona a fost adăugată la 1 ml urină obișnuită sau la 0,2 ml urină emisă în 4 ore după administrarea dozei-test.

Tabela 1

Reproductibilitatea lecturilor fluorometrice obținute pentru lactona acidului 4-piridoxic

Un volum potrivit dintr-o soluție de lactonă, conținînd cantitatea arătată în coloana a 2-a, a fost adus la 5 ml și a fost tratat ca o probă de urină, pentru obținerea *probei lactonizate* și *probei fluorescente*; s-a măsurat apoi fluorescența. S-a efectuat cîte o serie de 4–6 experiențe de acest fel cu fiecare cantitate de lactonă. În coloana a 4-a se dau *valorile extreme* și *media* pentru fiecare serie.

Seria de experiențe	Cantitatea de lactonă mg	Volumul probei lactonizate ml	Lecturi fluorometrice	
			Valorile extreme	Media
1a–1d	6	20	4,8– 5,8	5,3
2a–2f	12	,,	10,1–11,3	10,5
3a–3f	24	,,	19,2–22,0	21,0
4a–4f	,,	40	9,8–11,7	10,8
5a–5e	48	,,	21,0–22,6	21,8
6a–6d	72	,,	32,2–34,6	33,5

Tabela 2

Reproductibilitatea lecturilor fluorometrice obținute pentru lactona adăugată urinei obișnuite și recuperarea lactonei

La 1 ml dintr-o probă de urină obișnuită se adaugă cantitatea de lactonă arătată în coloana a 2-a și volumul se aduce la 5 ml. Se adaugă 5 ml soluție HCl 2N și se continuă după cum se arată în explicația dată la tabela 1.

Proba nr.	Lactonă adăugată μg	Volumul probei lactonizate ml	Lectură fluoro-metrică *)	Lactonă recuperată **) μg
1	0	20	2,0	—
1a	6	,,	4,7	5,4
1b	,,	,,	5,7	6,5
1c	12	,,	9,9	11,4
1d	,,	,,	10,4	11,7
1e	18	,,	16,3	18,7
1f	,,	,,	16,4	18,9
1g	24	,,	21,0	24,0
1h	,,	,,	21,2	24,3
2	0	40	1,3	—
2a	24	,,	10,8	24,0
2b	,,	,,	11,3	24,4
2c	48	,,	21,7	47,2
2d	,,	,,	21,2	46,4
2e	72	,,	30,9	67,2
2f	,,	,,	30,2	65,2

*) Valorile pentru probele 1a – 1h și 2a – 2f corespund lactonei adăugate. Ele au fost obținute scăzînd din lecturile propriu-zise pe acelea aflate pentru cantitatea de lactonă formată din acidul 4-piridoxic cuprins în urină (lectura pentru proba 1 din cele pentru probele 1a – 1h, și lectura pentru proba 2 din cele pentru probele 2a – 2f).

**) Pentru probele 1a–1h cantitățile sînt cele arătate de linia de regresie *A* din figură iar pentru probele 2a–2f cele arătate de linia de regresie *B* din figură.

Datele din coloanele 4 ale tabelelor arată că și în prezența constituenților urinei, lecturile fluorometrice corespunzătoare lactonei sînt perfect reproductibile.

B. *Dozările permit să se recupereze cantitativ lactona adăugată urinei.* Aceasta rezultă din datele cuprinse în tabelele 2 și 3. În coloanele 5 ale tabelelor sînt date cantitățile de lactonă (adăugată) deduse din lecturile fluorometrice cu ajutorul liniilor de regresie din figură. Ele sînt practic egale cu cele adăugate efectiv. Numai în două cazuri, cînd s-au adăugat urinei 72 μg lactonă, recuperările nu au fost cantitative, din cauza *quenching*-ului fluorescenței. Însă în condițiile în care se fac dozările, probele lactonizate conțin, în genere, cel mult circa 25 μg lactonă și niciodată cantități de 2 sau de 3 ori mai mari.

Tabela 3

Reproductibilitatea lecturilor fluorometrice obținute pentru lactona adăugată urinei emise după administrarea de piridoxal și recuperarea lactonei

La 0,2 ml dintr-o probă de urină emisă în 4 ore după administrarea dozei-test de piridoxal se adaugă cantitatea de lactonă arătată în coloana a 2-a și volumul se aduce la 5 ml. Se adaugă 5 ml soluție HCl 2N și se continuă în modul arătat anterior.

Proba nr.	Lactonă adăugată μg	Volumul probei lactonizate ml	Lectură fluorometrică*)	Lactonă recuperată**) μg
1	0	20	5,6	—
2	6	„	5,2	6
3	„	„	4,9	5,5
4	12	„	10,6	12,1
5	„	„	10,1	11,6
6	18	„	15,3	17,5
7	„	„	15,9	18,1
8	24	„	20,7	23,5
9	„	„	21,5	24,6

*) Valorile pentru probele 2 – 9 corespund lactonei adăugate Ele au fost obținute scăzînd din lecturile propriu-zise lectura pentru proba 1, corespunzătoare lactonei formate din acidul 4-piridoxic cuprins în urină.

**) Cantitățile sînt acelea arătate de linia de regresie *A* din figură.

C. *Dozările nu sînt tulburate de „substanțele jenante" din urină și dau rezultate exacte*, după cum arată datele din tabela 4. În această tabelă se dau rezultatele unei experiențe efectuate în felul următor : *a*) s-au preparat mai multe diluții dintr-o urină emisă după administrarea dozei-test (1 vol. urină + 2 vol. apă, 1 vol. urină + 3 vol. apă, 1 vol. urină + 4 vol. apă) ; *b*) s-a dozat acidul 4-piridoxic din fiecare diluție de cîte două ori, folosindu-se pentru dozări probe de 1 și 2 ml ; *c*) s-au raportat citirile fluorometrice și cantitățile corespunzătoare de lactonă la 1 ml urină nediluată. Analiza tuturor diluțiilor a condus la valori foarte apropiate pentru concentrația lactonei în urina nediluată, deși volumele de urină nediluată folosite pentru analize au variat de la 0,2 la 0,667 ml. Dacă lecturile fluorometrice ar fi fost influențate notabil de substanțele jenante,

Tabela 4

Rezultatele unor dozări efectuate pe diluții diferite obținute din aceeași probă de urină

Dintr-o probă emisă în 4 ore după administrarea dozei-test (de piridoxal) s-au preparat diluțiile arătate în coloana 1. S-a dozat de cîte două ori acidul 4-piridoxic din fiecare diluție folosindu-se probe de 1 și 2 ml diluție. Toate lecturile fluorometrice au fost raportate la 1 ml urină nediluată.

Diluția folosită pentru analiză	Proba folosită pentru dozare ml	Lectură fluorometrică	
		pentru proba fluorescentă	pentru 1 ml urină nediluată
1 vol. urină + 4 vol. apă	1	4,3	21,5
	2	8,4	20,9
1 vol. urină + 3 vol. apă	1	5,6	22,3
	2	10,8	21,5
1 vol. urină + 2 vol. apă	1	6,9	20,7
	2	13,6	20,4

ar fi trebuit să se găsească cu atît mai multă lactonă cu cît s-a folosit mai multă urină nediluată pentru dozare.

★

În afara modificărilor arătate, necesare pentru ca să se poată face dozările cu fluorometre de tipul Cohen, am socotit util să mai aducem metodei lui Sarett și o altă modificare. Pentru obținerea cantităților de lactonă corespunzătoare citirilor fluorometrice, Sarett folosește standarde externe, preparînd pentru fiecare dozare (sau serie de dozări) două standarde de acest fel (cu 3 respectiv 6 μg lactonă) și comparînd probele cu standardul cel mai apropiat. Datele prezentate de noi arată că standardele ar putea fi înlocuite printr-o curbă de etalonare, dar atît curba cît și standardele externe nu reprezintă termenele de referință cele mai potrivite. Numeroase dozări efectuate cu diverse metode fluorometrice ne-au arătat că urina conține adesea substanțe nefluorescente, care influențează fluorescența probelor chiar în cantități foarte mici. De aceea, termenul de referință cel mai indicat este un standard intern : o a doua probă de urină la care se adaugă o cantitate potrivită de lactonă sau de acid 4-piridoxic și care este tratată în mod identic cu proba principală. Cantitatea adăugată trebuie să fie apropiată de cea cuprinsă în urină și suma acestor cantități nu trebuie să depășească limita domeniului de proporționalitate. În genere, folosim standarde interne de 12 μg. Datele din tabele arată că acest procedeu duce la rezultate corecte. De exemplu, dacă socotim proba nr. 4, menționată în tabela 3, drept o probă propriu-zisă iar proba nr. 9 drept standardul intern cu 12 μg lactonă, obținem pentru cantitatea de lactonă din proba nr. 4 11,7 μg, în loc de 12,0 μg cît cuprinde în realitate *).

*) Pentru calcul, nu s-a ținut seama de fluorescența lactonei provenind din acidul 4-piridoxic cuprins în urină.

2. Validitatea testului de saturaţie

Aceasta a fost verificată printr-o metodă folosită anterior cu rezultate excelente, pentru studiul validităţii unor teste de saturaţie în nicotinamidă[9],[10]. Metoda constă în a cerceta, cu ajutorul testului ce se verifică, felul cum evoluează starea de saturaţie vitaminică a unor persoane supuse la un tratament de încărcare cu vitamina respectivă. Am cercetat astfel patru persoane care se hrăneau cu raţii mixte obişnuite şi care nu fuseseră

Tabela 5

Efectul tratamentului de încărcare cu piridoxină asupra răspunsurilor la testul de saturaţie

S-au administrat fiecărei persoane cîte 8 mg clorhidrat de piridoxină în zilele 1–14 şi cîte 16 mg clorhidrat de piridoxină în zilele 15–28. În zilele arătate în coloana a 2-a, fiecare persoană a fost supusă la testul de saturaţie. Excreţiile de acid 4-piridoxic în intervalul de 4 ore după administrarea dozei-test sînt date în cantităţi absolute în coloana a 3-a şi în procente din excreţia la timpul notat cu zero, în coloana a 4-a.

Persoană	Ziua efectuării testului de saturaţie	Excreţia de acid 4-piridoxic *)	
		mg	%
DM	0	7,52	100
	7	7,98	106
	14	9,56	127
	21	9,24	123
	28	8,75	117
AP	0	6,39	100
	14	6,79	153
	21	11,58	181
	28	12,42	194
CG	0	8,51	100
	7	10,49	123
	14	11,67	137
	21	13,43	158
	28	14,43	170
FS	0	8,13	100
	7	8,98	110
	14	10,62	131
	21	12,02	148
	28	11,99	147

*) Acidul 4-piridoxic este exprimat ca lactonă.

supuse de curînd tratamentului cu vitamine. Li s-a administrat regulat piridoxină timp de patru săptămîni : cîte 8 mg clorhidrat pe zi în primele două săptămîni şi cîte 16 mg clorhidrat pe zi în ultimele două. Testul de saturaţie s-a aplicat fiecărei persoane, în forma lui obişnuită (descrisă mai departe), în ziua care a precedat începutul perioadei de încărcare (notată cu 0) şi în zilele a 7-a, a 14-a, a 21-a şi a 28-a ale acestei perioade. Valorile excreţiilor de acid 4-piridoxic în 4 ore după administrarea dozei-test sînt indicate în tabela 5.

În cursul perioadei de tratament cu piridoxină toate persoanele cercetate au excretat cantități crescute de acid 4-piridoxic după administrarea dozei-test. La trei persoane excrețiile au crescut mai mult sau mai puțin paralel. Numai la a patra excreția n-a mai crescut după 14 zile (probabil deoarece, în cursul unui episod gripal din ultimele două săptămîni ale perioadei de încărcare, această persoană a transpirat abundent și a eliminat cantități mărite de acid 4-piridoxic o dată cu sudoarea).

Evoluția excrețiilor de acid 4-piridoxic are semnificația următoare : înaintea începerii tratamentului cu piridoxină, capacitatea țesuturilor de a reține această vitamină este relativ mare ; de aceea, la început, nu se elimină din doza-test administrată, sub formă de acid 4-piridoxic, decît fracțiuni relativ mici ; tratamentul cu piridoxină determină însă creșterea continuă a concentrației vitaminei în țesuturi, la început mai repede, ulterior mai încet iar pe măsură ce țesuturile devin mai bogate în piridoxină, ele rețin fracțiuni mai mici din doza-test, din care se excretă fracțiuni mai mari. Prin urmare, testul corespunde scopului pentru care a fost propus, căci răspunsurile la doza-test — cantitățile de acid 4-piridoxic eliminate în 4 ore după ce a fost administrată — sînt cu atît mai mari cu cît organismul este mai saturat în piridoxină și starea lui de nutriție, în raport cu nevoile de această vitamină, este mai mulțumitoare.

3. Răspunsurile persoanelor sănătoase la testul de saturație

Testul se poate efectua administrîndu-se fie piridoxină, fie piridoxal. Acesta se elimină relativ repede, mult mai repede decît piridoxina. În fapt, cea mai mare parte din excreția suplimentară de acid 4-piridoxic, determinată de luarea unei doze de 25 mg piridoxal, are loc în primele patru ore după ingerarea ei [1]. De aceea, am administrat doze-test de piridoxal, astfel încît să putem scurta perioada de colectare. Testul s-a practicat în felul următor : dimineața, înaintea micului dejun, persoana cercetată și-a golit vezica urinară, a luat un caşet cu doza-test și a băut 1 pînă la 2 pahare de apă ; a colectat apoi urina emisă în intervalul de 4 ore de la ingerarea dozei-test (golind vezica la încheierea intervalului). Doza de piridoxal era de 21 mg pentru femei și 25 mg pentru bărbați, aproximativ aceeași pentru 1 m^2 suprafață corporală. Acidul 4-piridoxic din urină a fost dozat prin metoda lui Sarett, modificată cum s-a arătat.

Am aplicat acest test la zece persoane sănătoase care se hrăneau cu rații obișnuite. La trei persoane testul a fost aplicat de cîte două ori la intervale de 1 pînă la 3 luni. Dozarea acidului 4-piridoxic în aceeași probă a fost repetată de 2—3 ori, folosindu-se pentru analize cantități deosebite de urină. Rezultatele obținute sînt indicate în tabela 6 în care, pe lîngă excrețiile medii, se dau și valorile individuale. Compararea lor arată că dozările s-au făcut în condiții foarte bune.

Excrețiile în intervalul de 4 ore după administrarea dozei-test au fost cuprinse între 6,34 și 11,59 mg acid 4-piridoxic (exprimat ca lactonă).

Tabela 6

Răspunsurile persoanelor sănătoase la testul de saturație piridoxinică

Fiecare probă de urină a fost analizată de mai multe ori, folosindu-se pentru dozări volumele arătate în coloana a 3-a. Indicațiile de felul AP (1) și AP(2) arată că datele corespunzătoare privesc primul și al doilea test la care a fost supusă aceeași persoană.

Persoană	Volum de urină excretat în 4 ore ml	Volum de urină folosit pentru dozare ml	Acid 4-piridoxic excretat în 4 ore*) mg	
AP(1)	485	0,606		8,10
		0,485		8,56
		0,404		8,72
			media	8,46
AP(2)	125	0,125		6,73
		0,156		6,05
			media	6,39
DM(1)	220	0,220		6,04
		0,183		6,65
			media	6,34
DM(2)	210	0,210		7,76
		0,300		7,28
			media	7,52
ID	170	0,340		6,77
		0,212		6,87
		0,170		6,25
		0,144		6,48
			media	6,59
EG	220	0,275		11,60
		0,220		11,48
		0,183		11,62
			media	11,59
FS(1)	130	0,216		7,44
		0,130		7,77
		0,100		7,62
			media	7,61
FS(2)	240	0,240		8,11
		0,300		8,16
			media	8,13
EC	310	0,387		7,98
		0,310		7,72
		0,258		7,98
			media	7,89
CG	510	0,510		8,90
		0,729		8,12
			media	8,51
MM	80	0,100		10,56
		0,080		10,60
		0,067		11,30
			media	10,82

*) Acidul 4-piridoxic este exprimat ca lactonă.

Tabela 6 (continuare)

Persoană	Volum de urină excretat în 4 ore ml	Volum de urină folosit pentru dozare ml	Acid 4-piridoxic excretat în 4 ore*) mg	
CB	300	0,600		6,53
		0,400		6,45
		0,300		6,42
			media	6,47
PP	255	0,319		10,7
		0,255		10,6
		0,212		10,8
			media	10,7

*) Acidul 4-piridoxic este exprimat ca lactonă.

Valorile găsite prezintă o tendință centrală marcată și media lor este de 8,23 mg. Bineînțeles, este necesar să se aplice testul la un număr mai mare de persoane înainte de a se putea stabili definitiv intervalul în care răspunsurile trebuie să fie considerate normale. Faptul că rezultatele obținute sînt omogene — excrețiile variază numai de la simplu la dublu *) — arată că acest interval nu este foarte deosebit de cel în care sînt cuprinse valorile de mai sus.

În încheiere, atragem atenția asupra constanței cantităților de acid 4-piridoxic excretate de persoanele cărora le-am aplicat testul de saturație de cîte două ori.

CONCLUZII

a) Metoda Sarett pentru dozarea acidului 4-piridoxic în urină poate să fie astfel modificată încît să permită efectuarea testului de saturație în piridoxină (propus de același autor) cu ajutorul unui fluorometru de 10 ori mai puțin sensibil. Datele experimentale demonstrează că modificările aduse nu alterează reproductibilitatea rezultatelor și exactitatea dozărilor.

b) Excreția urinară de acid 4-piridoxic, timp de 4 ore după administrarea orală a unei doze-test de piridoxal (de 25 mg la bărbați și de 21 mg la femei), reprezintă un indice valabil al stării de nutriție piridoxinică. Semnificația nivelului excreției a fost demonstrată de evoluția răspunsurilor la doza-test în cursul încărcării organismului cu piridoxină.

c) Excrețiile de acid 4-piridoxic aflate în urma aplicării testului de saturație la 10 persoane sănătoase, care se alimentau cu rații mixte obișnuite, au fost cuprinse între 6,34 și 11,59 mg, media fiind de 8,23 mg.

Prezentată la redacție la 22 ianuarie 1960

Catedra de chimie generală
I. M. F., București

*) Răspunsurile date de persoanele sănătoase la alte testuri de saturație, spre exemplu în tiamină, riboflavină și niacină, prezintă variații mult mai mari.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ПИРИДОКСИНОВОГО ПИТАНИЯ

РЕЗЮМЕ

Авторы предлагают некоторые изменения метода Саретта для дозировки 4-пиридоксиновой кислоты в моче, которые позволяют выполнять пробу на насыщение, предложенную этим автором, при помощи в десять раз менее чувствительного флюорометра, чем тот, который используется в методике Саретта; выясняется, что эти изменения не влияют на точность результатов.

Вводя в организм пиридоксин, авторы доказали, что выделение 4-пиридоксиновой кислоты, в течение 4 часов после введения пробной дозы (25 мг у мужчин и 21 мг у женщин), представляет характерный показатель состояния пиридоксинового насыщения.

В работе представлены результаты, полученные при применении метода у десяти взрослых здоровых лиц, питание которых содержало обычные смешанные рационы. Выделения 4-пиридоксиновой кислоты, выраженной в виде лактона, в течение 4 часов после введения пробной дозы, колебались от 6,34 до 11,59 мг, причем среднее значение равнялось 8,23 мг.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Соотношение между концентрациями и флюоресценциями проб лактона 4-пиридоксиновой кислоты.

ÉVALUATION DE L'ÉTAT DE SATURATION PYRIDOXINIQUE

RÉSUMÉ

On propose certaines modifications de la méthode de Sarett pour le dosage de l'acide 4-pyridoxique dans l'urine, qui permettent d'effectuer le test de saturation pyridoxinique, dû à cet auteur, à l'aide d'un fluoromètre dix fois moins sensible que celui indispensable pour l'application de la méthode originale ; on démontre que ces modifications n'affectent pas l'exactitude des résultats.

A l'aide d'expériences de surcharge avec pyridoxine, on démontre que l'excrétion d'acide 4-pyridoxique, pendant 4 heures après l'administration d'une dose-test de pyridoxal (de 25 mg pour l'homme et de 21 mg pour la femme), rend compte d'une manière satisfaisante de l'état de saturation pyridoxinique du sujet.

On expose les résultats obtenus par l'application du test à un groupe de 10 personnes adultes et en bonne santé, qui consommaient des rations mixtes habituelles. Les excrétions d'acide 4-pyridoxique, exprimées en quantités correspondantes de lactone, dans les 4 heures qui suivent l'administration de la dose-test, ont été comprises entre 6,34 et 11,59 mg, la moyenne étant de 8,23 mg.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1.— Proportionnalité des concentrations et des fluorescences de la lactone de l'acide 4-pyridoxique.

BIBLIOGRAFIE

1. H. P. SARETT, J. Biol. Chem., **189**, 769 (1951).
2. M. D. MEZINCESCU, E. SEREDIUC, A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, Bul. științ. Acad. R.P.R., seria științe medicale, **2**, 1229 (1950).
3. M. D. MEZINCESCU, C. MIHĂESCU, E. SEREDIUC, M. IONESCU, Comunicările Acad. R.P.R., **4**, 751 (1954).
4. E. SEREDIUC, V. SPIRIDONESCU, M. D. MEZINCESCU, Comunicările Acad. R.P.R., **5**, 611 (1955).
5. M. D. MEZINCESCU, A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, *A doua sesiune științifică a Institutului de medicină și farmacie*, București, 1956, p. 593.
6. M. D. MEZINCESCU, A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, E. SEREDIUC, *A doua sesiune științifică a Institutului de medicină și farmacie*, București, 1956, p. 594.
7. F. COHEN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas, **54**, 133 (1935).
8. M. D. MEZINCESCU, A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, Revista de chimie, A.S.I.T., **6**, 659 (1955).
9. A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, M. D. MEZINCESCU, Bul. științ. Acad. R.P.R., seria științe medicale, **2**, 1185 (1950).
10. A. POPESCU-ȘTEFĂNESCU, M. D. MEZINCESCU, Comunicările Acad. R.P.R., **5**, 777 (1955).

ASPECTE ALE BIOCHIMISMULUI SEMINȚELOR DE GRÎU, PORUMB ȘI BUMBAC, STIMULATE CU BROMURĂ DE POTASIU, HIDROCHINONĂ ȘI ACID GLUTAMIC

DE

VICTORIA ALEXANDRESCU

Stimularea seminţelor plantelor agricole, preconizată de M. P o p o f f [1], este un fenomen pentru a cărui explicare se impune să se cunoască acţiunea stimulatorilor asupra biochimismului din seminţe.

Din cercetările de pînă acum rezultă că substanţele folosite ca stimulatori pătrund în seminţe [2], [3], [4]; seminţele prezintă o selectivitate în ceea ce priveşte natura şi localizarea sărurilor pe care le pot absorbi [5], [6], [7]; după ce a pătruns, stimulatorul poate ieşi din nou din seminţe prin exosmoză [8]; stimulatorul acţionează asupra diferitelor enzime, de exemplu amilaza şi catalaza [9], [10], [11], [12], schimbă calitatea enzimelor proteidolitice, modificîndu-le coeficientul termic [13] etc.

În lucrarea de faţă am încercat să stabilim în ce fel bromura de potasiu, hidrochinona şi acidul glutamic schimbă echilibrul substanţelor ionogene, respiraţia (consumul de oxigen) şi activitatea catalazei în seminţele de grîu *A 15*, porumb *Romînesc de Studina* şi bumbac *1 298*, în condiţiile stimulării chimice. Respiraţia la grîu s-a urmărit şi pe plantule.

Exosmoza electroliţilor din seminţe. În general, procesele biochimice sînt legate de apariţia şi de consumul diferitelor substanţe ionogene, atît minerale (săruri, acizi, baze) cît şi organice (acizi organici, sărurile respective, aminoacizi etc.).

Tratarea seminţelor cu stimulatori chimici ar putea determina schimbări fizico-chimice şi chimice în interiorul lor, prin micşorarea sau mărirea adsorbţiei diferiţilor ioni existenţi în seminţe şi prin activarea sau inhibarea diferitelor reacţii în cursul cărora se formează sau se consumă substanţe ionogene. De aceea, cercetarea exosmozei diferitelor substanţe din seminţe poate da indicaţii globale în legătură cu desfăşurarea proceselor fizico-chimice şi metabolice din seminţe [14]. Exosmoza electroliţilor poate fi urmărită conductometric [15].

În cazul tratării semințelor cu soluții de bromură de potasiu și de acid glutamic, după mersul exosmozei din semințele tratate ca atare, în prealabil spălate, s-ar putea obține indicații dacă stimulatorii chimici menționați au pătruns în semințe sau au rămas adsorbiți numai pe suprafață. În cazul utilizării soluției de hidrochinonă, care nu schimbă prea mult conductibilitatea apei, aplicarea metodei conductometrice ar putea indica dacă hidrochinona pătrunsă în semințe modifică echilibrul substanțelor ionogene.

Pentru măsurarea conductibilității electrice specifice s-a întrebuințat o celulă de conductometrie model Arrhenius ; s-a folosit un conductometru în montaj Kohlrausch [16], determinările făcîndu-se la 25°C. N-am luat în considerație bioxidul de carbon ce se eliberează prin respirația semințelor, deoarece, prin experiențe prealabile, am constatat că bioxidul de carbon mărește prea puțin conductibilitatea electrică specifică, și anume numai cu 1 pînă la 2%.

Am urmărit exosmoza electroliților din semințele de grîu și porumb stimulate în condiții „anaerobe", adică acoperind complet semințele cu soluția stimulatoare, volumul de lichid fiind dublu față de greutatea semințelor. Durata tratamentului a fost de 8 ore, semințele de grîu fiind tratate cu bromură de potasiu 3‰ iar cele de porumb atît cu bromură de potasiu 3‰ cît și cu clorhidrat de acid glutamic 3,5‰. Semințele au fost uscate la aer pînă la greutatea inițială. Pentru exosmoză s-au pus în baloane de 50 ml fie 5 g semințe de grîu (100 boabe) în 20 ml apă bidistilată, fie 5 g semințe de porumb (17 boabe) în 40 ml apă bidistilată iar conductibilitatea soluției respective s-a determinat după 5 min, 1, 2, 3, 4 și 24 ore, introducînd electrozii în lichidul supernatant și agitînd soluția din cînd în cînd.

Tabela 1

Conductibilitatea electrică specifică a soluțiilor exprimată : $n.10^{-7}$; n reprezintă valoarea dată în tabelă

Timp exosmoză	Grîu *A15* (5 g la 20 ml)			Porumb *Românesc de Studina* (5 g/40 ml)		
	Martor	Tratate 8 ore cu KBr 3‰		Martor	Tratate 8 ore cu KBr 3‰	Tratate 8 ore cu acid glutamic 3,5‰
		spălate	nespălate			
5 min	120	—	742	—	—	—
1 oră	206	—	981	108	325	584
2 ore	268	—	1113	154	392	631
3 „	334	925	1201	—	—	—
4 „	—	—	—	233	505	668
24 „	1000	1773	2095	628	1021	1009

Din datele expuse în tabela 1 se constată că prin spălarea semințelor de grîu tratate se îndepărtează o parte din bromura de potasiu, probabil aceea de pe suprafața semințelor, rămînînd totuși în semințe o cantitate apreciabilă de bromură de potasiu, ceea ce de altfel este în concordanță și cu datele obținute de O. Zaharia [17].

Se observă că în primele ore de exosmoză conductibilitatea electrică specifică este mai mare la semințele de porumb tratate cu acid glutamic față de cele tratate cu bromură de potasiu, ca după 24 ore de exosmoză să se ajungă practic la aceeași valoare a conductibilității. Deci, mersul exosmozei variază de la stimulator la stimulator.

În cazul utilizării soluției de hidrochinonă $2^0/_{00}$, semințele de grîu au fost tratate „aerob", numai prin umectare cu o cantitate de soluție reprezentînd jumătate din greutatea lor, în trei reprize, la interval de 8 ore. După 24 ore de la începerea umectărilor s-au luat probe de cîte 5 g semințe la 40 ml apă bidistilată și s-a urmărit conductibilitatea electrică specifică a soluției după 1 și 2 ore de exosmoză. Porumbul s-a tratat cu hidrochinonă în aceleași condiții „anaerobe" ca și în cazul tratării cu bromură de potasiu și acid glutamic. Pentru comparație, am executat în paralel și măsurări de exosmoză a electroliților din semințele de grîu și porumb tratate în aceleași condiții numai cu apă distilată în loc de soluție.

Tabela 2

Conductibilitatea electrică specifică a soluțiilor exprimată : $n.10^{-7}$; n reprezintă valoarea dată în tabelă

Ore exosmoză	Grîu *A15*		Porumb *Românesc de Studina*	
	Martor	Hidrochinonă	Martor	Hidrochinonă
1	712	745	108	105
2	883	887	154	147
4	—	—	233	218
24	—	—	628	597

Din datele experimentale (tabela 2) reiese că în cazul tratării grîului cu hidrochinonă în condiții „aerobe" și a porumbului în condiții „anaerobe" exosmoza substanțelor ionogene este asemănătoare cu exosmoza din semințele tratate numai cu apă distilată. Aceasta arată că hidrochinona nu produce schimbări imediate în ceea ce privește echilibrul substanțelor) ionogene din interiorul semințelor.

Respirația. Intensitatea procesului respirator (consumul de oxigen al semințelor, plantulelor sau frunzelor de grîu s-a urmărit la aparatul Warburg în prezența hidroxidului de sodiu și rezultatele sînt date în μl oxigen consumați.

În cazul grîului, experiențele s-au efectuat pe semințe tratate prin umectare (deci „aerob") cu apă de la robinet (martor) și cu soluții de bromură de potasiu $3^0/_{00}$, hidrochinonă $2^0/_{00}$ și acid glutamic $3{,}5^0/_{00}$ în apă de la robinet. După 24 ore de la începutul umectărilor, s-au luat probe formate din cîte 20 boabe, pentru a măsura intensitatea procesului respirator. Restul de semințe, martor și tratate, au fost lăsate să încolțească iar udarea lor s-a făcut cu apă formolizată (2 ml formol $40^0/_0$ la 1 000 ml apă) pentru a evita mucegăirea. După 5 zile de la începutul umectării s-au scos probe de cîte 5 plantule, cărora li s-a determinat

intensitatea respiratorie iar după 10 zile, plantulele fiind prea mari, s-au luat numai frunze tăiate în porțiuni de cîte 2,5 cm lungime.

Din datele indicate în tabela 3 se constată că după 24 ore de la umectarea grîului consumul cel mai mare de oxigen îl prezintă semințele martor. Tratarea semințelor cu soluție de clorhidrat de acid glutamic, bromură de potasiu și hidrochinonă duce la micșorarea consumului de oxigen la 91%, respectiv 82 și 67% față de consumul semințelor martor luat 100%.

Tabela 3

Intensitatea procesului respirator la grîul *A 15*, exprimată în μlO_2

Varianta	Timp în min de respirație	Martor	Tratat cu		
			Acid glutamic	KBr	Hidrochinonă
20 boabe după 24 ore de la umectare	15	37	34	29	24
	30	73	66	65	48
	60	146	132	120	98
5 plantule după 5 zile de la umectare	15	16	19	—	—
	30	30	31	—	—
	60	53	53	—	—
60 frunze a 2,5 cm lungime după 10 zile de la umectare	30	27	27	25	25
	60	50	48	50	48

Plantele crescute din semințele tratate cu bromură de potasiu și hidrochinonă au fost la început de dimensiuni mai mici, dar în timp de 10 zile au ajuns practic la aceeași mărime ca și plantele martor. Din tabela 3 reiese că plantele de aceleași dimensiuni, tratate sau martor, au, practic, aceeași capacitate de a absorbi oxigenul.

În cazul semințelor de porumb tratate în condiții „anaerobe" cu soluție de bromură de potasiu 2,5‰ și hidrochinonă 2‰, fiecare probă a fost formată din 10 semințe.

Se constată (tabela 4) că, în aceste condiții tratarea semințelor cu bromură de potasiu, practic, nu influențează consumul de oxigen al semințelor de porumb, pe cînd hidrochinona scade consumul de oxigen la 81% față de martor.

Era interesant de văzut care din sistemele enzimatice respiratorii se inhibă prin tratarea semințelor cu hidrochinonă. Se știe că adăugarea hidrochinonei la o suspensie de embrioni de orz inhibă puțin respirația materialului vegetal [18]. Ca inhibitor al metalo-enzimelor respiratorii am folosit cianura de potasiu în concentrație de 0,01 M și timpul de imbibiție de 3 și 6 ore, în condiții „anaerobe". Pentru aceasta, semințele de porumb tratate „anaerob" cu apă (martor), cu soluție de bromură de potasiu 5‰ sau cu soluție de hidrochinonă 2‰, timp de 8 ore și uscate

la aer pînă la greutatea inițială, s-au împărțit în două grupe. O grupă s-a pus în apă distilată iar a doua în soluție de cianură de potasiu.

Se constată (tabela 5) că la semințele tratate cu soluție de cianură de potasiu, ținute inițial fie în apă fie în soluție de bromură de potasiu,

Tabela 4

Intensitatea procesului respirator la porumbul *Rominesc de Studina*, după 8 ore de imbibiție, exprimată în µl O_2

Timp în min.	Martor	Tratat cu	
		KBr 2,5‰	Hidrochinonă 2‰
30	97	96	79
60	196	190	161

procesul respirator este micșorat în ambele cazuri față de semințele ținute numai în apă și anume la 72% pentru 3 ore și la 60% pentru 6 ore de imbibiție. În cazul tratării cu hidrochinonă s-a constatat că după imbibiția ulterioară fie cu apă, fie cu soluție de cianură de potasiu, semințele prezintă același consum de oxigen, anume 57% față de cele ținute numai în apă, pe cînd semințele ținute în apă și apoi în cianură de potasiu pre-

Tabela 5

Intensitatea procesului respirator la semințele de porumb *Rominesc de Studina*, exprimată în µl O_2

Ore imbibiție	Respirația în min	Apă		KBr 5‰		Apă		Hidrochinonă 2‰	
		Apă	KCN	Apă	KCN	Apă	KCN	Apă	KCN
3	30	87	63	95	64	83	70	48	49
	60	170	125	190	121	151	139	98	99
6	30	94	62	101	61	—	—	—	—
	60	199	119	202	114	—	—	—	—

zintă un consum de oxigen de 84% față de martor. Aceasta arată că la semințele de porumb hidrochinona acționează asupra unui grup mare de enzime respiratorii, printre care se găsesc și cele inhibate de cianura de potasiu.

Acest lucru s-a examinat și pe semințe de bumbac *1 298*, care, pentru îndepărtarea perilor de pe suprafața lor, s-au tratat în prealabil cu acid sulfuric concentrat (66° Bé), s-au spălat pînă la reacție neutră și s-au lăsat să se usuce la aer. După tratarea semințelor timp de 16 ore cu hidrochinonă 2‰ în apă de la robinet și uscare, o parte din ele s-au ținut în apă iar restul în soluție de cianură de potasiu, timp de 3 ore.

Din datele experimentale (tabela 6) se constată că și în cazul semințelor de bumbac hidrochinona micșorează consumul de oxigen al semințelor la aproximativ 85% față de martor. Semințele îmbibate cu soluție de cianură de potasiu prezintă un consum de oxigen de 58% față de martor,

indiferent dacă au fost tratate înainte cu soluție de hidrochinonă sau dacă au fost ținute în apă. Spre deosebire de rezultatele obținute în cazul porumbului, se constată un consum de oxigen mai mare la grupa îmbibată apoi cu apă decît la grupa îmbibată cu cianură de potasiu. Aceasta arată că în cazul semințelor de bumbac acțiunea cianurii de potasiu este mai puternică decît aceea a hidrochinonei.

Tabela 6

Intensitatea procesului respirator la semințele de bumbac *1298*, exprimată în $\mu l\ O_2$

Respirația în min.	Martor 16 ore în apă		Tratat cu hidrochinonă $2^0/_{00}$ 16 ore	
	Apă	KCN	Apă	KCN
30	130	76	113	71
60	270	157	227	148

Activitatea catalazei din semințele tratate cu hidrochinonă. Deoarece încercările au arătat că hidrochinona inhibă unele enzime care sînt inhibate și de cianura de potasiu, s-a urmărit și activitatea catalazei. Experiențele s-au efectuat pe semințe de grîu și de porumb tratate ca în cazul urmăririi consumului de oxigen. Modul de obținere a extractului ce conține catalaza și determinarea activității ei la aparatul Warburg, sînt descrise într-o lucrare anterioară [19].

Tabela 7

Activitatea catalazei la semințele tratate cu hidrochinonă $2^0/_{00}$

Timp în min.	Grîu *A15*		Porumb *Rominesc de Studina*	
	Martor	Tratat	Martor	Tratat
15	52	39	159	82
30	85	70	198	116

Din datele experimentale (tabela 7) se constată că tratarea semințelor de grîu și de porumb cu soluție de hidrochinonă $2^0/_{00}$ micșorează activitatea catalazei în ambele cazuri. Acest fapt este în concordanță cu datele obținute în cazul urmăririi respirației.

În concluzie, prin urmărirea exosmozei electroliților din semințele de grîu și de porumb tratate cu diferiți stimulatori, am constatat că mersul exosmozei variază în funcție de stimulator și că tratarea cu hidrochinonă nu produce schimbări imediate în ceea ce privește echilibrul substanțelor ionogene din interiorul semințelor.

Cercetînd mersul consumului de oxigen la semințele de grîu, porumb și bumbac tratate cu soluții de hidrochinonă, comparativ cu cele îmbibate cu apă, am constatat scăderea netă a consumului de oxigen la semințele tratate.

În cazul îmbibării ulterioare a semințelor și cu cianură de potasiu, se constată că la semințele de porumb hidrochinona acționează asupra unui grup mare de enzime respiratorii, printre care și cele inhibate de

cianura de potasiu, pe cînd la semințele de bumbac acțiunea cianurii de potasiu este mai puternică decît aceea a hidrochinonei.

Bromura de potasiu, are o slabă acțiune de inhibare a consumului de oxigen la grîu și, practic, nici o acțiune la semințele de porumb și de bumbac.

În sfîrșit, am stabilit că tratarea semințelor de grîu și de porumb cu soluție de hidrochinonă micșorează activitatea catalazei în ambele cazuri.

Toate acestea arată, în concordanță și cu cercetările de alt gen efectuate pînă acum, că stimulatorii pătrunși în semințe exercită o acțiune bine definită asupra metabolismului acestora.

Prezentată la redacție la 4 ianuarie 1960

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., București

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЗМА СЕМЯН ПШЕНИЦЫ, КУКУРУЗЫ И ХЛОПКА, СТИМУЛИРОВАННЫХ БРОМИСТЫМ КАЛИЕМ, ГИДРОХИНОНОМ И ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

РЕЗЮМЕ

В настоящей работе автор стремился установить, как изменяются равновесие ионизирующих веществ, дыхание и активность каталазы семян пшеницы А 15, румынской кукурузы Студина и хлопка 1298 в условиях стимулирующего действия химических веществ. Для пшеницы также исследовалось дыхание ростков.

Проследив за экзосмозом электролитов из семян пшеницы и кукурузы, обработанных различными стимуляторами, автор установил, что эволюция экзосмоза изменяется в зависимости от стимулятора и что обработка гидрохиноном не вызывает немедленных изменений равновесия ионизирующих веществ внутри семян.

Исследуя эволюцию поглощения кислорода семенами пшеницы, кукурузы и хлопка, обработанных растворами гидрохинона, по сравнению с семенами, пропитанными водой, у обработанных семян было отмечено явное понижение поглощения кислорода.

При последующем пропитывании семян цианистым калием выясняется, что в случае семян кукурузы гидрохинон действует на большую группу дыхательных энзимов, включающую энзимы, ингибируемые цианистым калием, в то время как на семена хлопка цианистый калий оказывает более сильное действие, чем гидрохинон.

Применяя бромистый калий, автор пришел к выводу, что это вещество оказывает слабое ингибирующее действие на поглощение кислорода у пшеницы, а на семена кукурузы и хлопка оно практически совершенно не влияет.

Наконец было установлено, что обработка семян пшеницы и кукурузы раствором гидрохинона снижает активность каталазы в обоих случаях.

ASPECTS DU BIOCHIMISME DES GRAINES DE BLÉ, DE MAÏS ET DE COTONNIER, STIMULÉES AU BROMURE DE POTASSIUM, À L'HYDROQUINONE ET À L'ACIDE GLUTAMIQUE

RÉSUMÉ

L'auteur a tenté d'établir les modalités de variation de l'équilibre des substances ionogènes, de la respiration et de l'activité de la catalase dans les graines de blé A 15, de maïs Romînesc de Studina et de cotonnier 1 298, lorsqu'elles sont stimulées par des agents chimiques. En ce qui concerne le blé, la respiration a également été suivie sur les plantules.

Ayant suivi l'exosmose des électrolytes des graines de blé et de maïs, soumises à l'action des différentes substances stimulantes, l'auteur a constaté que la marche de l'exosmose varie en raison de la substance et que le traitement à l'hydroquinone ne détermine pas de modifications immédiates en ce qui concerne l'équilibre des substances ionogènes à l'intérieur des graines.

La marche de la consommation d'oxygène a été étudiée sur des graines de blé, de maïs et sur celles de cotonnier traitées à l'hydroquinone, comparativement aux graines des mêmes, imbibées d'eau. Une baisse nette de la consommation d'oxygène a été constatée par suite du traitement.

Lorsque les graines ont ultérieurement été imbibées, en sus, de cyanure de potassium, on a constaté que, pour les semences de maïs, l'hydroquinone agit sur un groupe important d'enzymes respiratoires et aussi sur ceux qui sont inhibés par le cyanure de potassium, tandis que, pour les semences de cotonnier, l'action du cyanure de potassium est plus puissante que celle de l'hydroquinone.

Au cours des expériences faites avec du bromure de potassium, celui-ci a manifesté une action d'inhibition de la consommation d'oxygène faible, en ce qui concerne le blé, et pratiquement nulle, sur les graines de maïs et de cotonnier.

L'auteur a établi, enfin, que le traitement des graines de blé et de maïs par une solution d'hydroquinone réduit l'activité de la catalase chez les deux genres.

BIBLIOGRAFIE

1. M. POPOFF, *Die Zellstimulation. Ihre Anwendung in der Pflanzenzüchtung und Medizin.* P. Parey, Berlin, 1931.
2. J. KISSER, K. LETTMAYR, Z. Pflanzenernährg. Düng. Bodenkunde, A, **29**, 195 (1933).
3. — Ztschr. für Pflanzenernährg. A, **34**, 172 (1934).
4. F. KOTOVSKI, Roczniki Nauk Rolniczych I. Leśnych, 18, 50 – 65, după Ch. Z., **II** 1970 (1927).
5. Л. И. ВИГОРОВ, ДАН СССР, **XCIV**, 1, 149 (1954).
6. A. NIETHAMMER, Mikrochem., **7**, 314 (1929).
7. — Bioch. Ztschr., **209**, 263 (1929).
8. E. MACOVSCHI, L. BOTOȘĂNEANU, Studii și cercetări de biochimie, **I**, *3*, 177 (1958).

9. M. A. ZLATAROFF, Bull. Soc. Chim. Biol., **16**, 1720 (1934).
10. M. POPOV, I. POPOV, Dokladî Bolgarskoi Akad. Nauk, **VI**, *2*, 65 (1953).
11. — Izvestia na Instituta po biologhiia „Metodii Popov", **VI**, 61 (1955).
12. I. POPOV, Izvestia na biologhiceskiia Institut, **V**, 203 (1954).
13. А. И. ДАРАГАН-СУЩОВА, ДАН СССР, **82**, *3*, 469 (1952).
14. E. MACOVSCHI, Comunicările Acad. R.P.R., **VIII**, *2*, 183 (1958).
15. V. GHEORGHE, Studii și cercetări de biochimie, **II**, *2*, 163 (1959).
16. I. S. LIALICOV, *Metode fizico-chimice de analiză*. Ed. tehnică, București, 1953, 184.
17. O. ZAHARIA, Studii și cercetări de biochimie, **I**, *2*, 161 (1958).
18. Д. М. МИХЛИН, П. А. КОЛЕСНИКОВА, Биохимия, **12**, 452 (1947).
19. V. ALEXANDRESCU, Studii și cercetări de biochimie, **III**, *1*, 45 (1960).

BLOCAREA REACȚIEI DE BRUNIFICARE ÎN VEDEREA CERCETĂRII PROTEINELOR DIN SUCUL CELULAR AL FRUNZEI

DE

VICTOR GHEȚIE și LUCIA BUZILĂ

Cercetarea proteinelor citoplasmatice din frunzele plantelor se efectuează în prezent atît pe extracte cît și pe sucul celular.

Sucul celular obținut din materialul vegetal prin presare conține, de obicei, o cantitate mai mică de pigmenți clorofilieni decît extractele. Ca și acestea însă, sucul celular este puternic impurificat de produșii de oxidare colorați ce rezultă din reacția sa de brunificare [1], [2].

Brunificarea sucului celular cuprinde un complex de reacții de natură enzimatică și neenzimatică. Enzimele interesate în această reacție sînt de tipul mono- și polifenoloxidazei, catalizînd oxidarea fenolilor la chinonele respective, puternic colorate. O parte din aceste substanțe cu structură chinonică pot reacționa cu proteinele, formînd combinații solubile sau insolubile [3]. Poate fi catalizată, de asemenea, oxidarea tirozinei din molecula proteinei, formîndu-se melanoproteine citoplasmatice, insolubile.

Reacția de brunificare neenzimatică [4] se datorește formării unor combinații colorate între proteine și glucidele reducătoare prezente în celulă.

Datorită reacțiilor de brunificare enzimatice și neenzimatice, substanțele proteice suferă modificări care pot avea un caracter ireversibil. Din acest motiv, precum și datorită culorii brun-închise a sucului celular, nu s-a putut efectua cercetarea sistematică a rolului proteinelor în reacțiile de apărare a plantei [5]. Pe de altă parte, culoarea brună a sucului celular nu permite folosirea unei metode optice rapide de dozare a proteinelor, care să înlocuiască determinările laborioase și de durată ale metodei Kjeldahl.

Numeroși autori au căutat să blocheze reacția de brunificare *in vitro*, prin adăugarea unor agenți reducători extractului sau sucului celular [1], [4]. Procedeele sînt eficiente numai în cazul întrebuințării unor concen-

trații destul de mari din agentul reducător, ceea ce poate influența nefavorabil starea proteinelor [6].

Ne-am propus să blocăm reacția de brunificare *in vivo*, prin vacuum-infiltrația unor cantități mici de inhibitori. Aceștia difuzînd din spațiile intercelulare în citoplasma celulelor, pot acționa atît asupra oxidazelor localizate în mitocondrii, cît și asupra potențialului normal redox al suprafeței interioare a celulelor, micșorîndu-l, ceea ce împiedică oxidarea substratului fenolic. Prin inhibarea *in vivo* a reacției de brunificare, am căutat să obținem sucuri celulare ale căror proteine să fie într-o stare apropiată de cea nativă.

Ca substanță inhibitoare am ales bisulfitul de sodiu, recomandat în literatură pentru inhibarea *in vitro* a reacțiilor de brunificare enzimatice și neenzimatice [2], [4]. Deoarece bisulfitul de sodiu este toxic pentru plante, i-am adăugat sulfit de sodiu care anulează toxicitatea soluției [7]. Folosirea unei soluții inhibitoare de sulfit-bisulfit de sodiu este utilă deoarece prin variația raportului dintre aceste componente, se permite ajustarea pH-ului soluției după pH-ul celular. Operația este importantă deoarece, dacă pH-ul soluției este inferior pH-ului celular, se provoacă insolubilizarea proteinelor din citoplasmă sau, invers, dacă pH-ul soluției este mai mare decît pH-ul celular, nu se realizează inhibarea totală a reacției de brunificare.

Eficiența inhibării reacției de brunificare s-a controlat prin determinarea activității polifenoloxidazice în sucurile celulare. Aceste sucuri pot fi folosite ca material pentru cercetarea proteinelor foliare numai dacă cuprind toate fracțiunile proteice ale citoplasmei și dacă conțin o cantitate destul de mare de proteine, în raport cu proteinele totale ale materialului foliar din care provin. Din acest motiv, cercetările noastre au urmărit comparativ, din punct de vedere cantitativ și calitativ, proteinele din suc și din citoplasma celulelor foliare.

Pentru determinarea substanțelor proteice din sucurile celulare practic incolore, am aplicat o metodă rapidă de dozare turbidimetrică.

MATERIAL ȘI METODE

S-au folosit frunzele unor plante la care reacția de brunificare se manifestă cu o intensitate diferită. Astfel, s-au ales salvia (*Salvia splendens*), menta (*Mentha piperita*) și lucerna (*Medicago sativa*) ca plante tipic oxidazice, cu o reacție de brunificare deosebit de puternică iar tutunul (*Nicotiana tabacum*) și tomatele (*Solanum lycopersicum*) ca plante cu o reacție de brunificare moderată.

Prepararea soluțiilor de sulfit-bisulfit de sodiu. Pentru vacuum-infiltrație s-au folosit soluții de sulfit-bisulfit de sodiu proaspăt preparate. La alegerea concentrațiilor de sulfit și bisulfit de sodiu s-a ținut seama de pH-ul sucurilor celulare ale frunzelor cercetate, care variază între 5,8 și 6,4. S-au preparat patru soluții conținînd o cantitate fixă de sulfit de sodiu (0,02 M) și cantități variabile de bisulfit de sodiu : 0,025 M (pH = 6,4) ; 0,05 M (pH = 6,1) ; 0,075 M (pH = 6,0) și 0,10 M (pH = 5,7).

Sistemul sulfit-bisulfit de sodiu are, în afara proprietăților oxido-reducătoare și proprietățile unei soluții tampon. Astfel, soluțiile de sulfit de sodiu 0,02 M și de bisulfit de sodiu 0,05 ; 0,075 și 0,1 M au o putere de tamponare de 2,5 ori mai mare decît soluțiile respective de sulfit sau bisulfit de sodiu.

Vacuum-infiltrația frunzelor cu soluție de sulfit-bisulfit de sodiu și obținerea sucului celular. Frunzele proaspăt recoltate s-au spălat cu apă distilată și au fost uscate prin tamponare cu hîrtie

de filtru. S-a îndepărtat peţiolul împreună cu nervura principală. Vacuum-infiltraţia soluţiei de sulfit-bisulfit de sodiu s-a făcut la un vid de 15—25 mm. Excesul de soluţie a fost îndepărtat prin tamponarea frunzelor cu hîrtie de filtru. Frunzele s-au îngheţat la aproximativ —10° C şi s-au dezgheţat brusc la +37°C pentru ruperea pereţilor celulari. Operaţia se poate repeta de cîteva ori. Pînă în momentul îngheţării (aproximativ o oră) soluţia de sulfit-bisulfit difuzează în citoplasma celulelor foliare.

Materialul foliar dezgheţat s-a introdus într-o presă de laborator şi s-a presat la 300 kg/cm². S-a obţinut sucul celular care se centrifughează la 3 500 t/min, timp de 15 min. Dacă supernatantul nu este perfect limpede, centrifugarea se repetă la o turaţie mai mare (9 500 t/min). Sucul celular al frunzelor vacuum-infiltrate cu soluţie de sulfit-bisulfit are o culoare galben-lămîie, asemănătoare serului sangvin.

Determinarea activităţii polifenoloxidazice în frunze. S-au folosit suc celular şi extracte obţinute din frunze de mentă vacuum-infiltrate cu soluţie de sulfit-bisulfit de sodiu. Extractele foliare s-au preparat după K. V. P ş e n o v a [8], folosind o soluţie tampon de fosfat M/15 de pH 6,8 şi un raport de extracţie de o parte material foliar la cinci părţi soluţie tampon. Activitatea polifenoloxidazică s-a determinat prin metoda manometrică, folosind aparatul Warburg. S-a utilizat ca substrat hidrochinona în concentraţie de 0,4 % iar pentru absorbţia bioxidului de carbon o soluţie de hidroxid de sodiu 20 %. Volumul total introdus în vasul de reacţie a fost : 2 ml extract foliar sau suc celular + 1 ml substrat (soluţie de hidrochinonă) + 0,2 ml soluţie de hidroxid de sodiu. Temperatura în timpul determinărilor a fost de 25°C iar citirile s-au făcut după 30 min de la punerea în contact a enzimei cu substratul. Datele obţinute au fost raportate la greutatea uscată, pentru a putea compara activitatea polifenoloxidazică a extractelor cu aceea a sucurilor celulare.

Stabilirea cantităţii şi calităţii proteinelor prezente în sucul celular în raport cu proteinele extrase din frunze. Pentru a aprecia cantitatea de proteină prezentă în sucul celular în raport cu proteinele extrase din frunze, s-a procedat astfel : în sucul celular obţinut dintr-o cantitate fixă de frunze s-au determinat substanţele proteice prin metoda micro-Kjeldahl. Prin această metodă s-au dozat şi proteinele obţinute din frunze cu trei extractanţi diferiţi (apă distilată, clorură de sodiu 0,15 M şi hidroxid de sodiu 0,1 M), în raport de extracţie de o parte material foliar la cinci părţi extractant.

Pentru a putea compara cantitatea de proteină prezentă în sucul celular şi în extractele respective, datele obţinute s-au raportat la greutatea uscată a materialului foliar folosit.

Proteinele totale citoplasmatice s-au determinat prin metoda indicată de V. G. K l i m e n k o [9]. S-a efectuat extracţia succesivă a materialului foliar cu apă distilată, clorură de sodiu 0,15 M, hidroxid de sodiu 0,1 M şi s-au dozat proteinele din cele trei probe amestecate în proporţii egale.

Fracţiunile proteice prezente în sucul celular, în raport cu fracţiunile proteinelor citoplasmatice, s-au cercetat prin metoda electroforezei pe hîrtie. Extractele foliare s-au obţinut atît din materialul foliar intact, cît şi din materialul foliar din care s-a eliminat sucul celular prin presare. Pentru extracţie s-a folosit tamponul borat de pH 9,0 şi putere ionică 0,1. Deoarece extractele aveau o concentraţie proteică sub limita de sensibilitate a metodei electroforetice, ele s-au concentrat prin metoda perevaporării. Această metodă s-a aplicat şi la sucurile celulare.

Electroforeza s-a efectuat în tampon veronal - veronal sodic de pH 8,5 şi putere ionică 0,075. Determinările s-au făcut la temperatura camerei, folosindu-se o cădere de potenţial de 9,5 V/cm timp de şapte ore.

Dozarea substanţelor proteice în sucul celular

Pentru dozarea proteinelor s-a ales metoda turbidimetrică a lui W. G. E x t o n [10], întrebuinţată de numeroşi autori la dozarea proteinelor din lichidele biologice de provenienţă animală.

Reactivul este format dintr-o soluţie ce conţine acid sulfosalicilic 2 % şi sulfat de sodiu 1 %. Determinările s-au efectuat la spectrofotometrul Pulfrich, folosind filtrul roşu cu $\lambda = 665$ mμ şi cuva cu grosimea de strat $d = 0{,}999$ cm. Deoarece aplicarea acestei metode la determinarea proteinelor vegetale nu am găsit-o menţionată în literatură, am cercetat în primul rînd timpul necesar pentru obţinerea turbidităţii maxime şi variaţia turbidităţii cu modificarea raportului dintre volumul sucului şi cel al reactivului adăugat.

Experiențele au arătat că extincția se stabilizează după 10 min (v. fig. 1-*a*) și se păstrează constantă cel puțin timp de 30 min. De aceea, am efectuat determinările după 15 min de la adăugarea reactivului. Rezultatele obținute redate în figura 1-*b*, ne-au determinat să alegem volume egale de reactiv și de suc, pentru obținerea unor extincții satisfăcătoare.

Pentru trasarea curbelor etalon extincție-concentrație proteică am folosit metoda diluțiilor succesive, pornind de la o probă de suc celular în care concentrația proteică era determinată prin metoda micro-Kjeldahl. Fotometrările s-au efectuat față de sucul celular la care, în loc de reactiv, s-a adăugat același volum dintr-o soluție de clorură de sodiu 0,15 M. Astfel s-au eliminat erorile determinate de intensitățile diferite de colorare a sucului.

Curbele etalon (fig. 2) se pot trasa în condiții satisfăcătoare pînă la o concentrație proteică care nu depășește 100 mg/100 ml. Din acest motiv, sucurile celulare cu o concentrație proteică mai mare trebuie diluate înainte de dozarea proteinelor cu o soluție de clorură de sodiu 0,15 M, în raport de 1 : 3 pînă la 1 : 4.

În cursul experiențelor noastre a fost necesară și dozarea substanțelor proteice în sucuri celulare de culoare brun-închisă, la care metoda turbidimetrică nu se poate aplica. În acest scop am încercat să folosim proprietatea proteinelor de a fixa albastrul de bromfenol într-o cantitate proporțională cu concentrația lor, principiu aplicat recent și de S. K. Dutta [11]. Reacția se efectuează pe suport solid (hîrtie de filtru) iar soluția alcoolică de albastru de bromfenol (albastru de bromfenol 0,1 g, clorură mercurică 5 g, acid acetic glacial 10 ml, etanol 90 ml) servește atît la colorarea proteinelor depuse pe hîrtia de filtru cît și la îndepărtarea produșilor de oxidare solubili în alcool, care colorează sucul celular. Astfel, pe hîrtia de filtru rămîne numai albastrul de bromfenol fixat de proteine.

Modul de lucru : pe o hîrtie de filtru Whatman nr. 1 se aplică cu o micropipetă cîte 20 µl din sucul celular (concentrație proteică egală cu 200—400 mg %), în 5 spoturi. Hîrtia se prelucrează după tehnica folosită curent în electroforeză. Spoturile obținute se eluează cu 3 ml dintr-o soluție de carbonat de sodiu 5 % în metanol de 50°. Eluția durează 45 min ; se fotometrează la spectrofotometrul Pulfrich în cuva cu grosimea de strat $d = 0{,}5$ cm, filtrul cu $\lambda = 575$ mµ.

Pentru determinarea concentrației proteice în vederea trasării curbelor etalon s-a folosit și în acest caz metoda micro-Kjeldahl.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Soluțiile de sulfit-bisulfit de sodiu vacuum-infiltrate difuzează în celulele foliare și pot acționa asupra oxidazelor prezente în citoplasmă sau fixate pe mitocondrii.

Am pus în evidență acest fenomen prin cercetarea activității polifenoloxidazice a sucului și a extractelor obținute din frunze de mentă

Tabela 1

Activitatea polifenoloxidazei în extractele și în sucurile celulare ale frunzelor de mentă (în µl O_2 la 1g substanță uscată, în timp de 30 min)

Raportul SO_3HNa/SO_3Na_2	Suc celular	Extract foliar
SO_3Na_2 0,02 M	145	1183
„ + SO_3HNa 0,025 M	71	1152
„ + SO_3HNa 0,05 M	4	736
„ + SO_3HNa 0,075 M	—	736
„ + SO_3HNa 0,1 M	—	576
Martor	119	1170

vacuum-infiltrate cu diferite soluții de sulfit-bisulfit. Din tabela 1 se observă că, pentru anumite raporturi bisulfit-sulfit, sistemul polifenoloxidazic poate fi complet inhibat în sucurile celulare. În extractele foliare însă nu se poate realiza inhibarea completă a activității enzimatice.

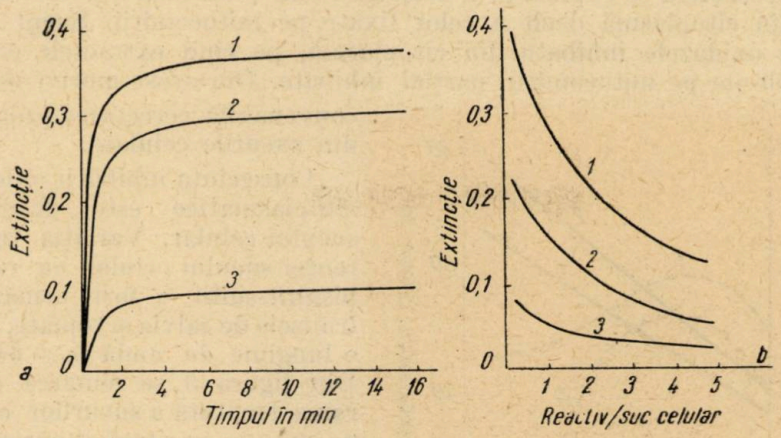


Fig. 1. — *a*) Variația extincției cu timpul.

1 — Tomate concentrație proteică 62,1 mg%;
2 — salvie concentrație proteică 38,6 „ „;
3 — tomate concentrație proteică 15,5 „ „.

b) Variația extincției cu raportul dintre reactiv și sucul celular.

1 — Tomate concentrație proteică 31,5 mg%;
2 — salvie concentrație proteică 20,7 „ „ ;
3 — salvie concentrație proteică 8,0 „ „ .

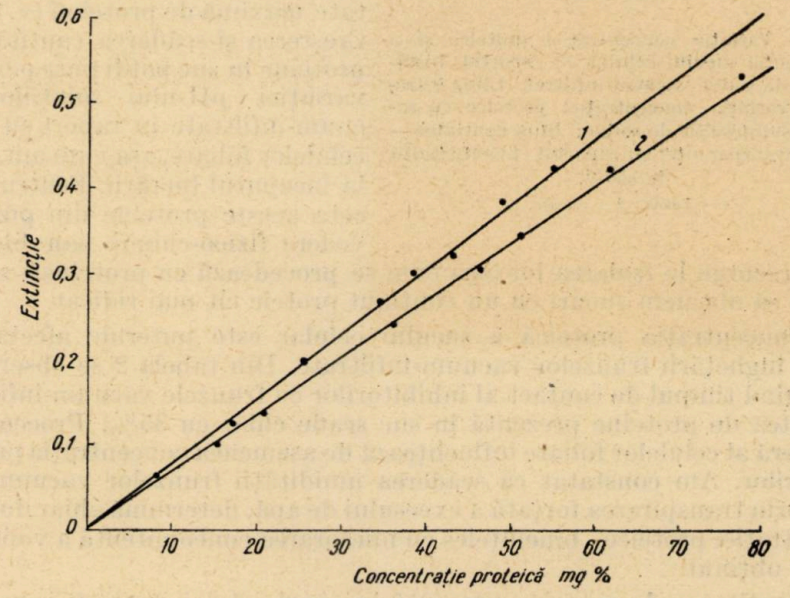


Fig. 2. — Variația extincției cu concentrația proteică.

1 — Salvie; *2* — tomate.

Deosebirea se explică prin inhibarea mai puternică a polifenoloxidazelor din citoplasmă decît a celor fixate pe mitocondrii. Sucul celular conține oxidazele inhibate din citoplasmă, pe cînd extractele conțin și oxidazele de pe mitocondrii, parțial inhibate. Din acest motiv, este mai convenabilă cercetarea proteinelor din sucurile celulare.

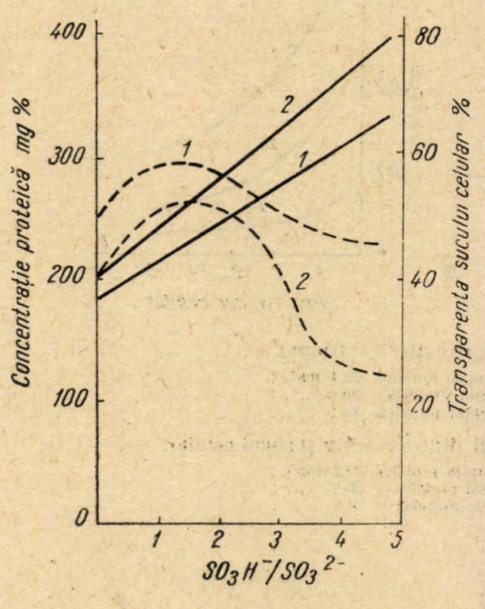


Fig. 3. — Variația concentrației proteice și a transparenței sucului celular cu raportul bisulfit/sulfit de sodiu vacuum-infiltrat. Linia întreruptă — variația concentrației proteice cu raportul bisulfit/sulfit de sodiu; linia continuă — variația transparenței cu raportul bisulfit/sulfit de sodiu.
1 — Tutun; *2* — tomate.

Consecința inhibării oxidazelor citoplasmatice este decolorarea sucului celular. Variația transparenței sucului celular cu raportul bisulfit-sulfit a fost urmărită la frunzele de salvia și tomate, pentru o lungime de undă $\lambda = 640$ mμ. Din figura 3 se remarcă decolorarea treptată a sucurilor celulare pe măsura creșterii raportului bisulfit-sulfit vacuum-infiltrat adică pe măsura blocării reacției de brunificare.

Paralel cu aceste determinări s-a urmărit și variația cantității de proteine. S-a constatat că există un raport optim între bisulfit și sulfit, caracterizat printr-o cantitate maximă de proteină (v. fig. 3). Creșterea și scăderea cantității de proteine în suc pot fi puse pe seama variației pH-ului soluțiilor vacuum-infiltrate în raport cu pH-ul celulelor foliare, așa cum am arătat la începutul lucrării. Pentru a cerceta aceste proteine din punct de vedere fizico-chimic sau biologic, fără a recurge la izolarea lor (așa cum se procedează cu proteinele serice), trebuie să obținem sucuri cu un conținut proteic cît mai ridicat.

Concentrația proteică a sucului celular este puternic afectată de durata înghețării frunzelor vacuum-infiltrate. Din tabela 2 se observă că, prelungind timpul de contact al inhibitorilor cu frunzele vacuum-infiltrate, cantitatea de proteine prezentă în suc scade chiar cu 35%. Procentul de apă liberă al celulelor foliare influențează de asemenea concentrația proteică a sucurilor. Am constatat că scăderea umidității frunzelor vacuum-infiltrate, prin transpirarea forțată a excesului de apă, determină chiar dublarea concentrației proteice, bineînțeles cu micșorarea concomitentă a volumului de suc obținut.

Cantitatea de proteine prezentă în sucul celular poate fi comparată cu cantitatea de proteine citoplasmatice care se extrage din frunze cu ajutorul extractanților obișnuiți (v. tabela 3).

Din datele tabelei se observă că în sucul celular al frunzelor de tomate se găsesc aproximativ 35% din proteinele citoplasmatice totale. Acest fapt a fost confirmat și pentru salvia (aprox. 30%). Cît privește extractele, deși cu hidroxidul de sodiu se obține cantitatea de proteină cea mai mare,

Tabela 2

Variația concentrației proteice cu timpul de contact al frunzelor cu soluția de sulfit-bisulfit de sodiu 0,05 M

Timp de contact ore	Concentrația proteică mg %	
	Tomate	Salvie
1	265	145
3	—	135
4	245	—
5	—	105
7	195	—
16	180	90

folosirea acestui extractant nu este totuși recomandabilă, deoarece extractele sînt de culoare brun-închisă (pigmenți clorofilieni și produșii reacției de brunificare) iar proteinele suferă la aceste pH-uri modificări însemnate.

Deoarece în sucul celular nu se găsesc decît 35% din proteinele citoplasmatice totale, am cercetat — cu ajutorul metodei electroforetice — dacă distribuția fracțiunilor proteice este identică în extracte și în suc.

Tabela 3

Cantitatea de proteine prezentă în sucul celular și în extractele foliare ale plantelor de tomate

Materialul analizat	Cantitatea de proteine % din greutatea uscată	Cantitatea de proteine % din proteina totală
Extract NaOH	9,9	80,0
„ NaCl	2,8	23,6
„ H_2O	2,3	18,5
Suc celular	4,3	34,7

Electroforegrama proteinelor din sucul celular al frunzelor de tomate a arătat o distribuție proteică aproape similară cu aceea a extractelor. Se constată totuși mici diferențe în ceea ce privește mobilitatea fracțiunilor din grupul cel mai depărtat de punctul de start (fig. 4). În extractele frunzelor rămase după îndepărtarea sucului celular se constată dispariția fracțiunilor cu mobilitate mare, ceea ce arată că acești componenți părăsesc citoplasma prin presarea sucului.

La frunzele de lucernă se constată că proteinele din suc conțin o fracțiune în plus față de extracte. Această fracțiune nu reprezintă, după părerea noastră, un artefact, ci prezența ei dovedește că în extracte, din

cauza pigmenților, nu se pot realiza separări electroforetice de calitate, care să evidențieze toate fracțiunile proteice prezente.

Afirmația este ilustrată și de calitatea separărilor electroforetice la extractele din frunze de salvia. În proteinograma obținută fracțiunile proteice nu se pot individualiza din cauza culorii uniforme. În sucul celular s-au putut evidenția cel puțin trei fracțiuni net delimitate. La salvia, după eliminarea sucului, se constată că rămîn în celulă doar fracțiunile proteice cu mobilitate electroforetică mică.

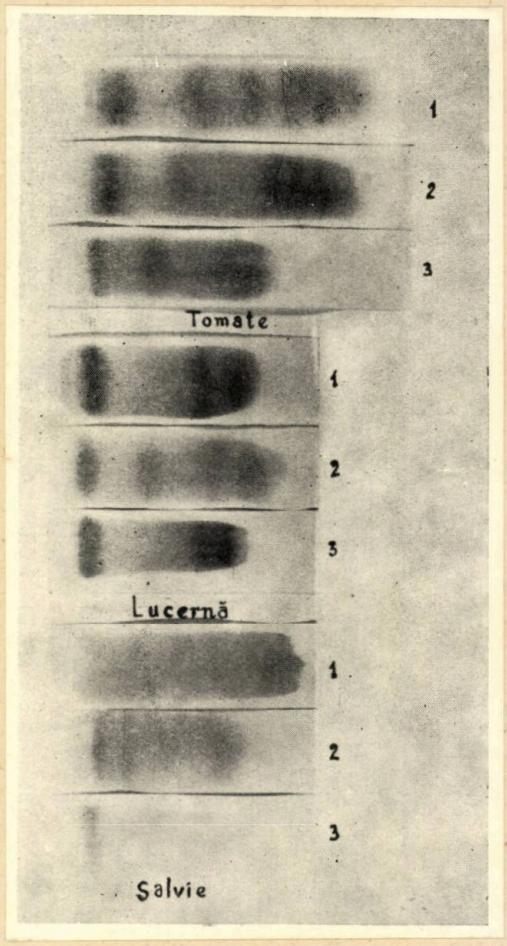


Fig. 4. — Electroforegramele proteinelor din sucul celular și extractele foliare.
1 — Extracte foliare; *2* — suc celular; *3* — extracte din frunze după îndepărtarea sucului celular.

Analizele electroforetice au arătat deci că fracțiunile proteice ale citoplasmei sînt prezente în sucul celular. Totodată s-a observat că rezultatele analizelor electroforetice sînt mai ușor interpretabile cînd se lucrează cu sucul celular.

Conținutul de substanțe proteice al sucurilor celulare s-a determinat printr-o metodă turbidimetrică. Aplicarea acestei metode la dozarea proteinelor vegetale ne-a dat deplină satisfacție în ceea ce privește rapiditatea determinărilor iar precizia ei este mulțumitoare (v. tabela 4).

Sucurile celulare sînt însă impurificate de substanțele organice și anorganice ce se găsesc în mod obișnuit în citoplasmă. Alături de ele există și o anumită cantitate de sulfați, care provin din oxidarea sulfiților vacuum-infiltrați de către mitocondrii [12], precum și o foarte mică cantitate de sulfiți neoxidați (sub 0,1 g%). Pentru eliminarea acestor substanțe am recurs la dializa sucurilor celulare față de o soluție fiziologică de clorură de sodiu.

Astfel am obținut sucuri celulare stabile, lipsite de substanțe care pot interacționa cu proteinele. Sucurile celulare stabilizate și parțial purificate sînt materialul pe care îl folosim în cercetarea proprietăților biologice ale proteinelor foliare.

Tabela 4

Compararea rezultatelor obținute prin metoda micro-Kjeldahl și pe cale turbidimetrică

Planta	Concentrația proteică mg% determinată prin metodele		Eroarea relativă procentuală a metodei turbidimetrice
	Micro-Kjeldahl	Turbidimetrie	
Salvie	10,72	10,52	−1,9
„	15,01	15,78	+5,1
Tomate	16,06	16,34	+1,7
„	20,07	21,54	+7,0
Salvie	25,74	26,95	+4,7
Tomate	32,12	31,20	−2,9

CONCLUZII

Prin vacuum-infiltrația soluțiilor de sulfit-bisulfit de sodiu în frunzele plantelor studiate se realizează *in vivo* inhibarea sistemelor enzimatice și neenzimatice care determină reacția de brunificare a sucului celular.

Datorită inhibării acestei reacții, se obțin sucuri celulare de culoare galben-deschisă, în care substanțele proteice se găsesc într-o stare apropiată de cea nativă.

Proteinele prezente în sucul celular, deși reprezintă numai 35% din proteinele totale citoplasmatice, conțin toate fracțiunile existente în citoplasma celulară.

Inhibarea reacției de brunificare permite aplicarea unei metode rapide turbidimetrice de dozare a substanțelor proteice, ale cărei rezultate sînt destul de exacte.

Prezentată la redacție la 11 noiembrie 1959

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., București

БЛОКИРОВКА РЕАКЦИИ ПОБУРЕНИЯ С ЦЕЛЬЮ ИЗУЧЕНИЯ ПРОТЕИНОВ КЛЕТОЧНОГО СОКА ЛИСТЬЕВ

РЕЗЮМЕ

Авторы представляют новый метод блокировки реакции побурения (browning reaction) в клеточном соке листьев. Торможение этой реакции выполняется in vivo вакуум-инфильтрацией раствора сульфита-бисульфита натрия в листьях исследуемых растений (томаты, табак, шалфей лекарственный, мята, люцерна).

Полученные таким образом клеточные соки имеют светло-желтый цвет, содержат небольшое количество введенных вакуум-инфильтрацией тормозящих веществ, а протеиновые вещества находятся в со-

стоянии, близком к начальному. Несмотря на то, что протеины, находящиеся в клеточном соке, представляют только 35% общих цитоплазматических белков, они содержат все фракции клеточной цитоплазмы.

Торможение реакции побурения позволило авторам применить экспрессивный нефелометрический метод определения протеиновых веществ, дающий довольно точные результаты.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — *a* — Изменение экстинкции во времени. *1.* Томаты — концентрация протеинов 62,1 мг % ; *2.* Шалфей — концентрация протеинов 38,6 мг%; *3.* Томаты — концентрация протеинов 15,5 мг %. *b* — Изменение экстинкции в зависимости от отношения между реактивом и клеточным соком. *1.* Томаты — концентрация протеинов 31,5 мг%; *2.* Шалфей — концентрация протеинов 20,7 мг%; *3.* Шалфей — концентрация протеинов 8,0 мг%.

Рис. 2. — Изменение экстинкции в зависимости от концентрации протеинов. *1.* Шалфей; *2.* Томаты.

Рис. 3. — Изменение концентрации протеинов и прозрачности клеточного сока в зависимости от отношения вакуум-инфильтрированных бисульфита и сульфита натрия. Прерывистая линия представляет изменение концентрации протеинов; сплошная линия—изменение прозрачности. *1.* Табак; *2.* Томаты.

Рис. 4. — Электрофореграммы протеинов клеточного сока и экстрактов листьев. *1.* Экстракты листьев. *2.* Клеточный сок; *3.* Экстракты листьев после удаления клеточного сока.

BLOCAGE DE LA RÉACTION DE BRUNISSEMENT EN VUE DE L'ÉTUDE DES PROTÉINES DU SUC CELLULAIRE DE LA FEUILLE

RÉSUMÉ

Les auteurs indiquent un nouveau procédé de blocage de la réaction de brunissement (*browning reaction*) dans le suc cellulaire des feuilles. L'inhibition de cette réaction est réalisée *in vivo*, par vacuum-infiltration d'une solution de sulfite-bisulfite de soude dans les feuilles des plantes étudiées (tomates, tabac, sauge, menthe, luzerne).

Les sucs cellulaires obtenus de cette manière ont une coloration jaune clair. Ils contiennent une petite quantité de substances inhibitrices vacuum-infiltrées, tandis que les substances protéiques se trouvent dans un état proche de l'état natif. Les protéines qui se trouvent dans le suc cellulaire ne représentent que les 35% des protéines totales cytoplasmatiques, mais elles possèdent toutes les fractions existantes dans le cytoplasma cellulaire.

L'inhibition de la réaction de brunissement a permis aux auteurs d'appliquer au dosage des substances protéiques une méthode turbidimétrique rapide, dont les résultats sont suffisamment exacts.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — *a*) Variations de l'extinction, en fonction du temps. *1.* = Tomates, concentration protéique : 62,1 mg %. *2.* — Sauge des prés, concentration protéique : 38,6 mg %. *3.* — Tomates, concentration protéique : 15,5 mg %. *b*) Variations de l'extinction en fonction du rapport réactif/suc cellulaire. *1.* — Tomates, concentration protéique : 31,5 mg %. *2.* — Sauge, concentration protéique : 20,7 mg %. *3.* — Sauge, concentration protéique : 8,0 mg %.

Fig. 2. — Variations de l'extinction en fonction de la concentration protéique. *1.* — Sauge ; *2.* — Tomates.

Fig. 3. — Variations de la concentration protéique et de la transparence du suc cellulaire en fonction du rapport bisulfite/sulfite de soude vacuum-infiltré. Tracé discontinu : variations de la concentration protéique, en fonction du rapport bisulfite/sulfite de soude ; tracé continu : variations de la transparence, en fonction du rapport bisulfite/sulfite de soude. *1.* — Tabac ; *2.* — Tomates.

Fig. 4. — Electrophorégrammes des protéines du suc cellulaire et des extraits foliaires. *1.* — Extraits foliaires ; *2* — suc cellulaire ; *3* — extraits des feuilles après élimination du suc cellulaire.

BIBLIOGRAFIE

1. H. S. MASON, *Comparative biochemistry of the phenolase complexes.* Adv. in enzymology, **16**, 105 (1955).
2. M. THOMAS, Melanin in W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie* Springer Verlag, Berlin — Göttingen — Heidelberg, 1958, **VIII**, 1076.
3. H. S. MASON, *Reactions between quinones and proteins.* Nature, **175**, 771 (1955).
4. H. D. CREMER, E. MENDEN, *Zusammenfassende Übersichtberichte über nichtenzymatische Bräunungsreaktionen und ihre physiologischen Folgen.* Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch., **104**, 33 (1956).
5. E. GÄUMANN, *Principles of plant infections.* Crosby Lookwood, London, 1950, 322.
6. В. А. БЕЛИЦЕР, К. И. КОТКОВА, О. В. ЛОБАЧЕВСКАЯ, Г. Н. ЦИХАЛАВСКАЯ, *О свойствах и значении дисульфидных груп в сывороточном альбумине.* ДАН., СССР, **116**, *3*, 451—454 (1957).
7. G. SCHAEFFER, F. A. DOORMAN, H. I. WATERMAN, *The toxic action of sulfur dioxide on vegetable cells.* Chimie & Ind., **69**, 848 (1953).
8. К. В. ПШЕНОВА, *Оксидазы эфиромасличных растений.* Биохимия, **21**, 279 (1956).
9. В. Г. КЛИМЕНКО, *Формы азота семян и белки лоби, мала и фасоли.* Украинск. биохим. журн., **25**, 342 (1953).
10. W. G. EXTON, *A simple and rapid test for albumin and other urinary proteins.* J. Am. Med. Assoc., **80**, 529 (1923).
11. S. K. DUTTA, *Colorimetric analysis of protein bodies.* Indian J. Med. Research, **46**, 299 (1958).
12. J. TAGER, N. RANTANEN, *Sulfite oxidation by a plant mitochondrial system.* Biochim. Bioph. Acta, **18**, 111 (1955).

CERCETAREA UNOR ULEIURI VEGETALE CU AJUTORUL FENOMENULUI DE TULBURARE SPONTANĂ A SOLUȚIILOR LOR ACETICE-TOLUENICE ÎN CONTACT CU APA

DE

LYDIA VAICUM

Într-o publicație anterioară [1] s-a arătat că în timpul difuziei acidului acetic prin membrana lichidă formată de două faze nemiscibile (toluen și apă) stratul de toluen devine tulbure, datorită formării unei emulsii de apă în această hidrocarbură. Evoluția tulburării poate fi cercetată cu ajutorul unei celule fotoelectrice, obținîndu-se rezultate reproductibile în aceleași condiții de lucru. Viteza și intensitatea de tulburare sînt semnificativ influențate de diferitele adaosuri la cele două faze (cantități mici de apă, acetonă, alcool metilic [1], săruri dizolvate în faza apoasă [2], unele substanțe liposolubile, substanțe superficial active).

Așa fiind, acad. E. Macovschi mi-a propus să cercetez pe această cale unele extracte și lichide de interes tehnologic și biologic, în scopul stabilirii unor relații între evoluția tulburării și substanțele aflate în faza lipoidică. Astfel, s-a ajuns la dozarea cantităților mici de apă din acidul acetic foarte concentrat [3].

În lucrarea de față se expun rezultatele obținute cu diferite uleiuri comestibile. În acest domeniu s-au mai întrebuințat unele sisteme ternare formate de uleiurile vegetale, fie ca metodă de identificare a unor uleiuri comestibile [4], fie ca test pentru puritate [5], folosindu-se temperaturile critice de solubilitate. Determinările constau în urmărirea fotoelectrică a evoluției tulburării unei soluții toluenice de acid acetic și ulei vegetal. Această soluție se suprapune într-o cuvă cu pereți plan-paraleli peste apă iar intensitatea de tulburare se citește din minut în minut la milivoltmetrul cuplat cu o celulă fotoelectrică acționată de un fascicol de lumină ce trece prin stratul de toluen. Se constată că după cîtva timp de la începerea experienței, faza toluenică devine tulbure, apoi tulburarea devine mai intensă, pentru ca în urmă să se producă o limpezire treptată. Rezultatele (media a trei determinări cu date foarte apropiate) se înscriu într-un grafic,

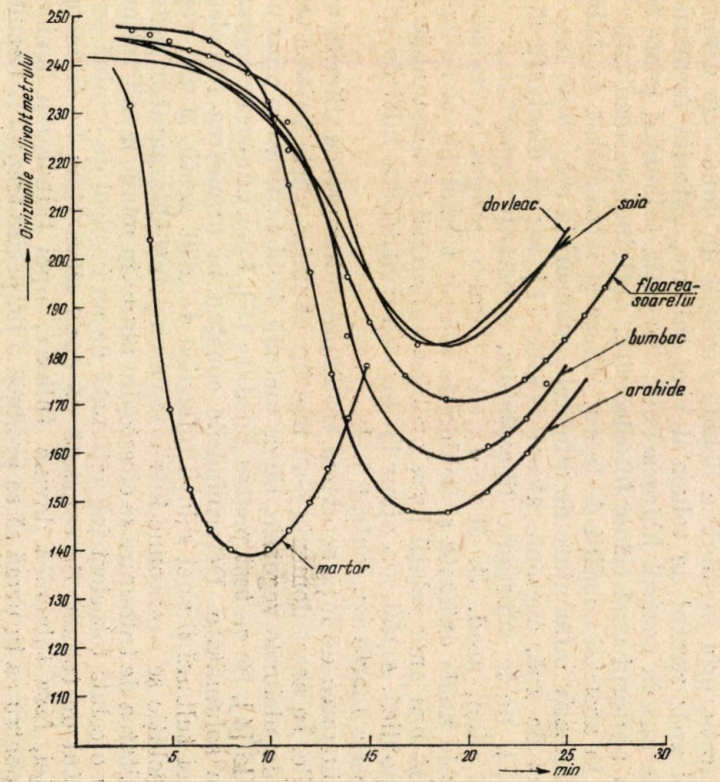


Fig. 1. — Evoluția tulburării soluțiilor acetice-toluenice de diferite uleiuri vegetale. Faza toluenică este formată din : 3 ml ulei vegetal, 2,5 ml acid acetic, completat în balonul cotat pînă la 10 ml cu toluen. Martor : soluție 25 % vol. acid acetic în toluen.

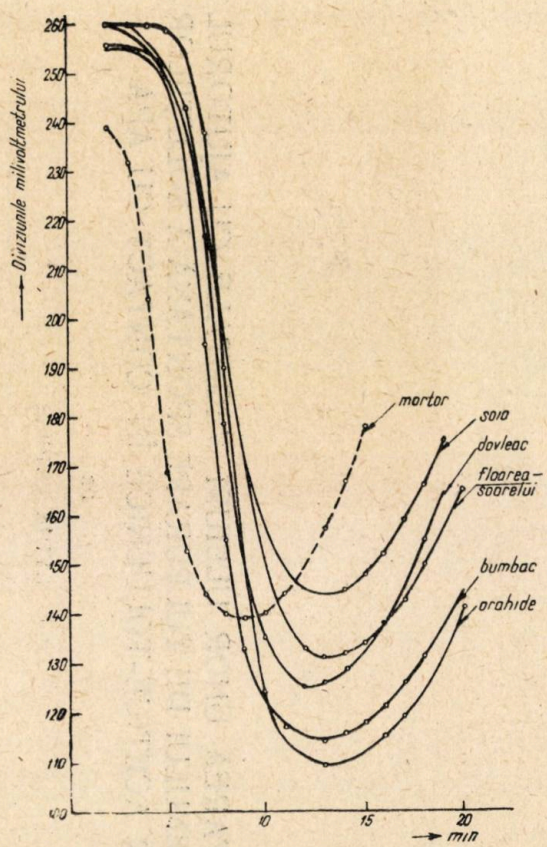


Fig. 2. — Evoluția tulburării soluțiilor acetice-toluenice de diferite uleiuri vegetale. Faza toluenică este formată din : 1,5 ml ulei vegetal, 2,5 ml acid acetic, completat în balonul cotat pînă la 10 ml cu toluen. Martor : soluție 25 % vol. acid acetic în toluen.

în care pe abscisă se notează timpul iar pe ordonată diviziunile milivoltmetrului. Ca fază toluenică s-au întrebuințat amestecuri de toluen, acid acetic 99—100% și uleiuri provenite de la fabrica „Filimon Sîrbu" (ulei de dovleac, soia, floarea-soarelui, bumbac, arahide).

Graficul tulburării diferitelor amestecuri de toluen, acid acetic și ulei vegetal, care conțin 3, 1,5 respectiv 0,25 ml ulei, 2,5 ml acid acetic și toluen pînă la 10 ml arată, față de martor (acid acetic 25% vol. în toluen) (fig. 1, 2 și 3) că :

1. La toate amestecurile se obține o curbă proprie fiecărui fel de ulei vegetal.

2. Cu cît cantitatea de ulei din soluție este mai mare, cu atît tulburarea începe mai tîrziu și are o intensitate mai mică (probabil din cauza vîscozității relative crescute a fazei toluenice).

3. Curbele corespunzătoare diferitelor uleiuri se succed în aceeași ordine la toate concentrațiile examinate (soia, floarea-soarelui, dovleac, bumbac, arahide).

4. Pentru același ulei, curbele corespunzătoare diferitelor concentrații examinate se găsesc cînd deasupra, cînd dedesubtul curbei martor, fără a avea, aparent, o legătură cu cantitatea de ulei (de exemplu, curba dată de uleiul de floarea-soarelui care la 30% și 2,5% vol. se găsește deasupra curbei martor iar la 15% vol. sub ea).

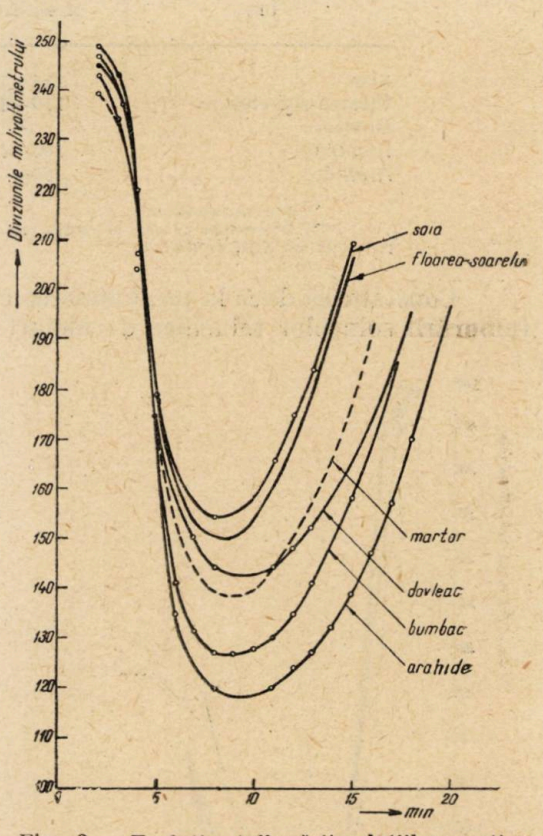


Fig. 3. — Evoluția tulburării soluțiilor acetice-toluenice de diferite uleiuri vegetale. Faza toluenică este formată din : 0,25 ml ulei vegetal, 2,5 ml acid acetic completat în balonul cotat pînă la 10 ml cu toluen. Martor : soluție 25% vol. acid acetic în toluen.

Era interesant de văzut dacă există corelații între succesiunea curbelor sau deplasările lor față de martor și unele caracteristici fizice și chimice ale soluțiilor respective. S-au cercetat densitatea, vîscozitatea relativă și tensiunea superficială, dar valorile găsite pentru fiecare constantă fizică sînt prea apropiate între ele pentru a putea aduce o lămurire. Se pare însă că există o legătură între succesiunea curbelor și unele caracteristici chimice ale uleiurilor întrebuințate : intensitatea de tulburare a soluțiilor acetice-toluenice ale uleiurilor crește cu cît indicele de iod este mai mic și cu cît indicele de aciditate este mai mare (v. tabela).

Tabelă

Valorile unor caracteristici chimice ale uleiurilor cercetate

Ulei	Indice de iod*)	Indice de aciditate**)
Soia	114—137	0,95
Floarea-soarelui	119—135	1,12
Dovleac	—	1,23
Bumbac	103—110	1,32
Arahide	86— 98	5,04

*) Din literatură [6].
**) Determinat pe cale obișnuită prin titrare cu potasă alcoolică și exprimat în mg KOH/g substanță.

Constatarea duce la presupunerea că un factor important în evoluția tulburării soluțiilor toluenice de uleiuri vegetale este prezența și natura

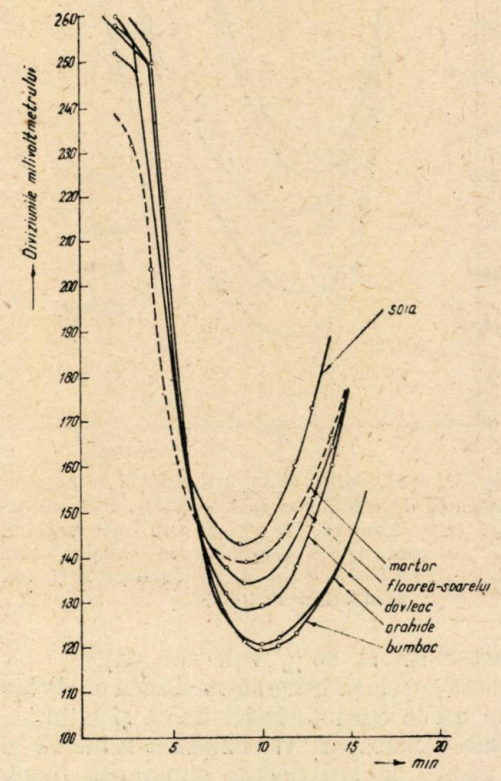


Fig. 4. — Evoluția tulburării soluției toluenice formate din : 0,1 ml acizi grași ai uleiului respectiv; 2,5 ml acid acetic, completat pînă la 10 ml cu toluen. Martor : soluție 25 % vol. acid acetic în toluen.

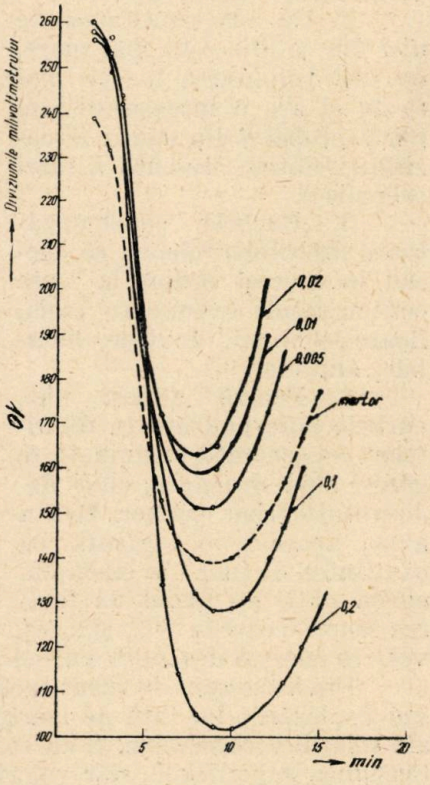


Fig. 5. — Evoluția tulburării soluțiilor toluenice formate din : cantități diferite de acizi grași din uleiul de dovleac, 2,5 ml acid acetic, completat pînă la 10 ml cu toluen. Cifrele arată cantitatea de acizi grași în ml. Martor : soluție 25 % vol. acid acetic în toluen.

acizilor graşi, care, probabil, influenţează prin proprietăţile lor superficial-active mersul normal al difuziei acidului acetic prin membrana lichidă.

Acizii graşi acţionează asupra intensităţii de tulburare prin calitatea şi prin cantitatea lor. Determinările făcute cu aceeaşi cantitate (0,1 ml) de acizi graşi totali, obţinuţi prin hidroliza uleiurilor respective şi introduşi în 10 ml soluţie de 25% vol. acid acetic în toluen (fig. 4) arată că succesiunea curbelor este aceeaşi ca şi în cazul soluţiilor de uleiuri, intensitatea de tulburare fiind însă diferită.

Se poate presupune că succesiunea curbelor depinde de calitatea acizilor graşi prezenţi în soluţia toluenică, iar intensitatea de opacifiere de cantitatea lor. Aspectul cantitativ este ilustrat în figura 5 : evoluţia tulburării fazelor toluenice în care există cantităţi diferite de acizi graşi dintr-un singur ulei — uleiul de dovleac.

Se observă că acizii graşi ai unui singur ulei produc deplasări importante ale curbelor, unele deasupra, altele dedesubtul curbei martor, la variaţii mici de cantitate. Repetarea experienţelor cu acizi graşi p.a. : oleic, linolic, caprilic, au confirmat constatările făcute (fig. 6) *)

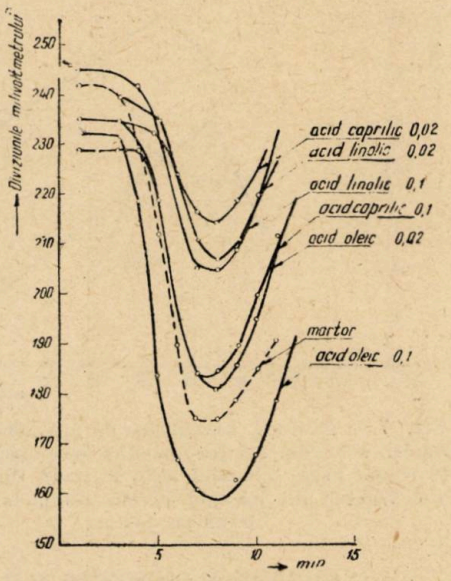


Fig. 6. — Evoluţia tulburării soluţiilor toluenice care conţin : 0,02 ml şi 0,1 ml acizi graşi puri, 2,5 ml acid acetic, completat pînă la 10 ml cu toluen. Martor : soluţie 25% vol. acid acetic în toluen.

Intensităţile de tulburare diferite sînt cauzate atît de natura acidului gras, cît şi de cantitatea lui, datorită probabil modificării suprafeţei de separare pentru difuzia acidului acetic. În cazul de faţă, modificarea poate fi produsă de etalarea diferită a acizilor graşi pe interfaţa lichid-lichid.

Ca urmare a celor constatate, era interesant de văzut ce curbe se vor obţine prin învechirea uleiurilor. Pentru aceasta s-au urmărit la anumite intervale de timp, pe o perioadă de aproximativ trei luni, trei probe de uleiuri (soia, floarea-soarelui şi bumbac) de la fabrica „Biruinţa" cu date de fabricaţie cunoscute. În diagrama din figura 7, pe ordonată sînt înscrise minimele curbelor (corespunzător maximului de intensitate a tulburării) în diviziuni ale milivoltmetrului iar pe abscisă timpul în zile ; în conformitate cu datele obţinute în figura 5, se obţine o zonă de minim, urmată de un maxim, după care urmează o scădere liniară.

În acest din urmă caz succesiunea minimului curbelor celor trei uleiuri este aceeaşi ca la uleiurile provenite de la fabrica „Filimon Sîrbu" : soia, floarea-soarelui, bumbac.

*) În experienţele de faţă s-a întrebuinţat acid acetic de altă concentraţie, de aceea şi curba martor are altă alură.

În concluzie, urmărirea tulburării fazei lipoidice formate din toluen, acid acetic și uleiuri vegetale, în timpul difuziei acidului acetic în apă, a adus unele date interesante :

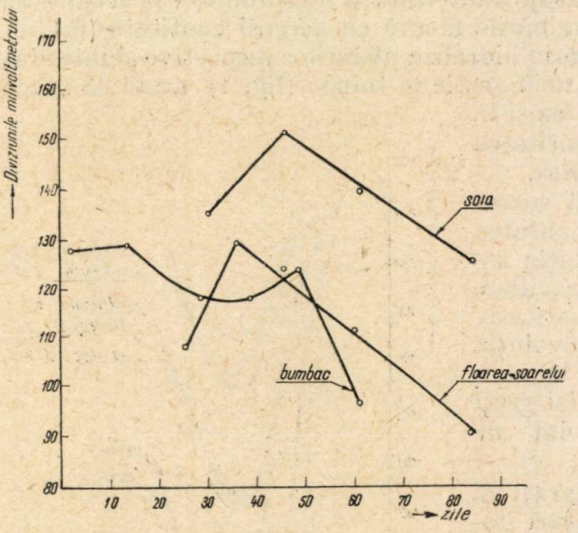


Fig. 7. — Evoluția maximelor de intensitate a tulburării soluțiilor acetice-toluenice de uleiuri vegetale în timp. Faza toluenică este formată din : 1,5 ml ulei vegetal, 2,5 ml acid acetic, completat pînă la 10 ml cu toluen.

— ca și pentru alte sisteme cercetate [1], [2], [3] și în acest caz se obțin curbe reproductibile pentru aceeași experiență ;

— față de aceeași curbă martor, dintr-o serie de uleiuri vegetale cercetate, fiecărui tip de ulei îi corespunde o curbă proprie, diferită de celelalte ; acest fapt s-ar putea utiliza pentru cercetări în scopul stabilirii unei metode rapide de identificare ;

— în cazul soluțiilor cercetate nu se poate face o legătură între unele constante fizice și succesiunea curbelor respective ;

— evoluția fenomenului de tulburare pare a fi însă în legătură cu cifra de iod și cu indicele de aciditate ;

— calitatea și cantitatea acizilor grași existenți în ulei sînt un factor important în evoluția acestui fenomen.

Prezentată la redacție la 21 noiembrie 1959

Laboratorul de chimie
al Institutului de construcții, București

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ ПРИ ПОМОЩИ ЯВЛЕНИЯ СПОНТАННОГО ПОМУТНЕНИЯ ИХ УКСУСНО-ТОЛУОЛОВЫХ РАСТВОРОВ ПРИ КОНТАКТЕ С ВОДОЙ

РЕЗЮМЕ

Во время диффузии уксусной кислоты из толуола в воду толуол мутнеет. На скорость и интенсивность помутнения влияют, кроме того, липорастворимые поверхностноактивные вещества, находящиеся в толуоловой фазе.

Автор проследил с помощью фотоэлектрического метода эволюцию помутнения уксусно-толуоловых растворов различных растительных масел (тыквенное, соевое, подсолнечное, хлопковое, арахидное).

Было установлено, что при исследованных концентрациях масел, для всех смесей получается кривая, специфическая для каждого растительного масла, и что кривые повторяются в той же последовательности: соя, подсолнечник, тыква, хлопок, арахиды. Эта последовательность, вероятно, связана с иодным и кислотным числами соответствующих масел.

Фотоэлектрическое изучение эволюции помутнения уксусно-толуоловых растворов жирных кислот, содержащихся в исследованных маслах, а также чистых жирных кислот показало, что количество и качество содержащихся в масле жирных кислот действительно являются важным фактором эволюции явления.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Эволюция помутнения уксусно-толуоловых растворов различных растительных масел. Толуоловая фаза состоит из 3 мл растительного масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной толуолом в мерной колбе до 10 мл. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 2. — Эволюция помутнения уксусно-толуоловых растворов различных растительных масел. Толуоловая фаза состоит из 1,5 мл растительного масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной толуолом в мерной колбе до 10 мл. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 3. — Эволюция помутнения уксусно-толуоловых растворов различных растительных масел. Толуоловая фаза состоит из 0,25 мл растительного масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной толуолом в мерной колбе до 10 мг. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 4. — Эволюция помутнения толуолового раствора, состоящего из: 0,1 мл жирных кислот соответствующего масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной толуолом в мерной колбе до 10 мл. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 5. —Эволюция помутнения толуоловых растворов, состоящих из различных количеств жирных кислот тыквенного масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной в мерной колбе толуолом до 10 мл. Цифры показывают количество жирных кислот в мл. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 6. — Эволюция помутнения толуоловых растворов, содержащих 0,02 и 0,1 мл чистых жирных кислот, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной толуолом в мерной колбе до 10 мл. Контрольная проба: 25% раствор уксусной кислоты в толуоле.

Рис. 7. — Эволюция во времени максимумов интенсивности помутнения уксусно-толуоловых растворов растительных масел. Толуоловая фаза состоит из: 1,5 мл растительного масла, 2,5 мл уксусной кислоты, доведенной в мерной колбе толуолом до 10 мл.

ÉTUDE DE CERTAINES HUILES VÉGÉTALES À L'AIDE DU PHÉNOMÈNE DE TURBIDITÉ SPONTANÉE DE LEURS SOLUTIONS ACÉTO-TOLUÉNIQUES AU CONTACT DE L'EAU

RÉSUMÉ

Au cours de la diffusion de l'acide acétique, du toluène dans l'eau, le toluène se trouble. La vitesse et l'intensité de la turbidité sont influencées, entre autres, par les substances liposolubles et superficiellement actives qui se trouvent à la phase toluénique.

Les déterminations que l'on expose ici consistent à suivre, à l'aide d'une cellule photo-électrique, l'évolution de la turbidité des solutions acéto-toluéniques de différentes huiles végétales (graines de potiron, soja, tournesol, cotonnier, arachides).

On a constaté que, pour les concentrations d'huiles étudiées, on obtient, pour tout mélange, une courbe propre à chaque espèce d'huile végétale et que les courbes se suivent dans le même ordre : soja, tournesol, potiron, cotonnier, arachides. La successions des courbes semble être en rapport avec l'index d'iode et avec l'index d'activité des huiles respectives.

L'étude photo-électrique de l'évolution de la turbidité dans les solutions acéto-toluéniques des acides gras des huiles en question, ainsi que dans celles d'acides gras purs, prouve que la qualité et la quantité des acides gras d'une huile constituent effectivement un facteur important de la marche du phénomène en question.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Evolution de la turbidité des solutions acéto-toluéniques de différentes huiles végétales. Phase toluénique : huile végétale, 3 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25 % vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 2. — Evolution de la turbidité des solutions acéto-toluéniques de différentes huiles végétales. Phase toluénique : huile végétale, 1,5 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25 % vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 3. — Evolution de la turbidité des solutions acéto-toluéniques de différentes huiles végétales. Phase toluénique : huile végétale, 0,25 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25 % vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 4. — Evolution de la turbidité des solutions toluéniques, formées comme suit : acides gras de l'huile respective, 0,1 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25 % vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 5. — Evolution de la turbidité des solutions toluéniques, formées comme suit : acides gras de l'huile de potiron en différentes quantités, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25 % vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 6. — Evolution de la turbidité des solutions toluéniques suivantes : acides gras purs, 0,02 ml et 0,1 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml, au ballon jaugé. Témoin : solution à 25% vol. d'acide acétique en toluène.

Fig. 7. — Evolution au cours du temps des intensités maxima de la turbidité des solutions acéto-toluéniques d'huiles végétales. Phase toluénique : huile végétale, 1,5 ml, acide acétique, 2,5 ml, toluène en quantité suffisante pour compléter 10 ml au ballon jaugé.

BIBLIOGRAFIE

1. E. MACOVSCHI, L. VAICUM, Bul. şt. Acad. R.P.R., secţia de ştiinţe biologice, agronomice, geologice şi geografice, **III**, *4*, 761 (1951).
2. L. VAICUM, Comunicările Acad. R.P.R., **V**, *3*, 523 (1955).
3. — Analele Universităţii „C. I. Parhon", seria ştiinţe naturale, *10*, 133 (1956).
4. M. TORTELLI, V. FORTINI, Gazetta chimica italiana, *41* i, 173 (1911).
5. E. VOYATZAKIS, Prakt. Akad. Athenon, *26*, 111 (1951); *28*, 195 (1953); *29*, 426 (1954).
6. * * * *Manualul chimistului*, 1948, **I**, 628.

INFLUENȚA ACIDULUI RIBONUCLEIC ASUPRA ACUMULĂRII SUBSTANȚELOR PROTEICE ÎN PLANTE

DE

ODETTE ZAHARIA

Se știe că în microorganisme și în țesuturile animale, acizii nucleici și în special acidul ribonucleic influențează sinteza substanțelor proteice [1]. Pe plante s-a lucrat însă prea puțin. Așa de exemplu, I. Bottger și R. Wallgiehn [2] găsesc la plantele de tutun ținute în diferite condiții un paralelism între cantitatea de acizi nucleici și aceea de proteine din frunze; G. C. Webster și M. P. Johnson [3], precum și J. Brachet [4] constată inhibarea încorporării aminoacizilor marcați în proteinele rădăcinilor de mazăre și ceapă tratate cu ribonuclează, datorită, probabil, scăderii cantității acizilor nucleici, dar o mărire a acestei încorporări după adăugarea de acid ribonucleic la omogenatele rădăcinilor respective.

Pînă acum nu se știe dacă și acizii nucleici care s-ar introduce ca atare în planta vie ar favoriza creșterea cantității substanțelor proteice. Se cunosc unele încercări mai vechi de a introduce acizi nucleici ca atare în plantele vii și anume pe cale radiculară, la tomate și porumb [5], [6], nereușite însă, acizii nucleici fiind hidrolizați de enzimele din rădăcini. Neajunsul se evită, astăzi, cu ajutorul metodei capilare [7], [8], [9], [10]. La sugestia acad. E. Macovschi, am recurs la această metodă pentru a introduce acid ribonucleic în plante și pentru a urmări influența lui asupra cantității substanțelor proteice din frunze.

Ca material de experiență am folosit plante de tomate din soiul *John Baer* (*Djon Beer*) de șase săptămîni și plante de ardei iute *Portocaliu* de nouă săptămîni, crescute în seră. Acidul ribonucleic din drojdie (*Chinoin-Budapesta*) a fost verificat în ceea ce privește conținutul în azot total [11], fosfor total [12], azot purinic [11] și pentoze [13]; reacția biuretului [13] a fost negativă.

La tomate s-au introdus două soluții de acid ribonucleic, 1 g respectiv 5 g $^0/_{00}$, iar la ardei numai soluție 1 g $^0/_{00}$. Tratamentul a durat 6 pînă la 7 zile, timp în care plantele de tomate au absorbit cîte 0,5—3,5 ml soluție iar cele de ardei cîte 0,4—1,8 ml. Experiențe preliminare au arătat că apa distilată introdusă tot prin metoda capilară nu influ-

enţează cantitatea substanţelor proteice din frunzele de tomate şi ardei. De aceea, în experienţele date mai departe, comparaţia se face cu plante martor netratate. Experienţele s-au efectuat pe cîte 5—6 plante de tomate şi 10 plante de ardei din fiecare variantă. S-au analizat toate frunzele unei plante, dozîndu-se azotul proteic după metoda Ivanov, descrisă într-o lucrare anterioară [8].

Datele din tabelă arată creşterea cantităţii de azot proteic atît la plantele de tomate cît şi la cele de ardei. La plantele de tomate, creşterea este mai accentuată în cazul tratării cu acid ribonucleic $1^0/_{00}$; ar însemna deci că o cantitate mărită de acid ribonucleic intrată în plante micşorează efectul constatat. În legătură cu aceasta, subliniem faptul observat de G. C. Webster şi M. P. Johnson [3] şi anume că creşterea gradului de încorporare a aminoacizilor în proteine are loc numai prin adăugarea unei anumite cantităţi de acid ribonucleic; depăşirea cantităţii duce la scăderea efectului arătat.

Tabelă

Variaţiile azotului proteic în frunzele de tomate şi de ardei în urma introducerii soluţiilor de acid ribonucleic. Cifrele reprezintă mg azot proteic raportate la 1 g material uscat

Varianta	Tomate		Ardei	
	Media	Diferenţa faţă de martor	Media	Diferenţa faţă de martor
Martor	13,6	—	44,2	—
Acid ribonucleic $1^0/_{00}$	20,4	6,8	52,2	8,0
Acid ribonucleic $5^0/_{00}$	18,6	5,0	—	—

În cazul plantelor de tomate diferenţa limită semnificativă este 5,7 (pentru P = 0,01) şi 3,93 (pentru P = 0,05) iar la plantele de ardei 1,57 (pentru P = 0,001).

În concluzie, acidul ribonucleic din drojdie introdus în plante, deşi este de altă provenienţă, influenţează biochimismul azotului din frunze, producînd creşterea substanţelor proteice. Faptul acesta concordă cu constatarea făcută de G. C. Webster şi M. P. Johnson [3] că creşterea gradului de încorporare a aminoacizilor în proteinele rădăcinilor de mazăre se obţine nu numai prin adăugarea acidului ribonucleic din mazăre ci şi a celui din ficat sau grîu.

Prezentată la redacţie la 14 ianuarie 1960

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., Bucureşti

ВЛИЯНИЕ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СКОПЛЕНИЕ ПРОТЕИНОВ В РАСТЕНИЯХ

РЕЗЮМЕ

Автор исследовал влияние рибонуклеиновой кислоты дрожжей, введенной капиллярным способом в растения томата и перца, на содержание протеинов. Протеиновый азот определяли методом Н. И. Ива-

нова. Было установлено возрастание содержания протеинового азота как в томатах, так и в перцах; это возрастание заметнее в растениях, поглотивших меньшее количество рибонуклеиновой кислоты.

L'ACTION DE L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE SUR L'ACCUMULATION DES SUBSTANCES PROTÉIQUES DANS LES PLANTES

RÉSUMÉ

L'auteur étudie l'influence de l'acide ribonucléique des levures, sur le taux de substances protéiques dans la plante — tomate, piment — dans laquelle l'ARN est introduit par la méthode capillaire. L'azote protéique est déterminé suivant la méthode de N. I. Ivanov. Les déterminations révèlent une augmentation quantitative de l'azote protéique tant dans la plante de tomate que dans le piment, augmentation qui est plus accentuée dans les plantes qui ont absorbé l'acide ribonucléique en petite quantité.

BIBLIOGRAFIE

1. E. CHARGAFF, J. N. DAVIDSON, *The nucleic acids*. Academic Press, New York, 1955, **II**, 486.
2. I. BOTTGER, R. WALLGIEHN, *Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nucleinsäure und Eiweissstoffwechsel in grünen Blättern höherer Pflanzen*. Flora, **146**, 302 (1958).
3. G. C. WEBSTER, M. P. JOHNSON, *Effects of ribonucleic acid on aminoacid incorporation by a particulate preparation from pea seedlings*. J. biol. Chem., **217**, 641 (1955).
4. J. BRACHET, *Effects of ribonuclease on the metabolism of living root-tip cells*. Nature, **174**, 876 (1954).
5. H. T. ROGERS, R. W. PEARSON, W. H. PIERRE, *Absorption of organic phosphorus by corn and tomato plants and the mineralizing action of exoenzyme systems of growing roots*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., **I**, 285 (1940); rezumat C. A., 3607[6] (1942).
6. R. W. PEARSON, W. H. PIERRE, *Assimilation of organic phosphorus by corn and tomato plants*. Iowa Agr. Expt. Sta. Ann. Rept., 95 (1940); C. A., 5940[4] (1942).
7. E. MACOVSCHI, *Metoda capilară pentru introducerea compușilor chimici și produșilor biologici în corpul plantelor*. Comunicările Acad. R.P.R., **VIII**, *2*, 183 (1958).
8. E. MACOVSCHI, O. ZAHARIA, L. BUZILĂ, *Asimilarea azotatului de amoniu introdus în plante de tomate prin metoda capilară*. Studii și cercetări de biochimie, *1*, 17 (1959).
9. V. FRUNZETI, L. BUZILĂ, E. GHINEA, *Introducerea unor soluții în plante prin metoda capilară*. Studii și cercetări de biochimie, *3*, 285 (1959).
10. E. MACOVSCHI, O. ZAHARIA, *Acțiunea prolinei asupra aminoacizilor și substanțelor proteice din floarea-soarelui*. Studii și cercetări de biochimie, **3**, *1*, 7 (1960).
11. А. Н. БЕЛОЗЕРСКИЙ, Н. И. ПРОСКУРЯКОВ, *Практическое руководство по биохимии растений*. Москва, 1951, 106.
12. A. BODANSKY, *Determination of serum inorganic phosphate and of serum phosphatase*. Amer. J. of Clinical Pathology, Technical supplement, 1 (1932).
13. K. PAECH, M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. **IV**, 291 (1955).

BAZELE BIOCHIMICE ALE IMUNITĂȚII PLANTELOR ÎN LUMINA CELEI DE-A III-A CONSFĂTUIRI UNIONALE DE IMUNITATE A PLANTELOR (U.R.S.S., 1959)

DE

V. EȘANU

Între 15 și 25 septembrie 1959 s-a ținut la Chișinău (U.R.S.S.) a III-a consfătuire unională de imunitate a plantelor față de boli și dăunători. În cele ce urmează se vor expune, în lumina acestei consfătuiri, bazele biochimice ale imunității plantelor.

După M. V. Gorlenko, B. A. Rubin ș.a., imunitatea la plante înseamnă rezistența lor la boli în cazul unui contact nemijlocit cu parazitul apt să transmită o anumită boală, cînd condițiile necesare pentru aceasta există. Rezistența, respectiv sensibilitatea la atacul unui parazit sînt rezultatul stabilirii unui strîns contact fiziologic între acesta și gazdă.

S-au elaborat diferite teorii pentru a se explica pe ce cale se apără planta. Se cunoaște o teorie mecanică a imunității, care explică proprietățile de rezistență la boli prin particularitățile morfologice și anatomice ale plantelor. A apărut apoi teoria chemotropică, după care plantelor imune le-ar lipsi substanțele necesare atragerii paraziților. Au urmat diferite ipoteze asupra presiunii osmotice a sucului celular, asupra prezenței pigmenților antocianici, a acidității, a vivotoxinelor, a enzimelor ș.a., ca factori determinanți ai proprietății de rezistență. În ultimii ani, D. D. Verderevski a elaborat teoria fitoncidelor, ca o teorie generală biologică a imunității. Dar, ca și la celelalte teorii, s-a dovedit că imunitatea nu este legată totdeauna de prezența factorului considerat ca principal.

Partea vulnerabilă a acestor teorii este concepția pe care se bazează, că un fenomen atît de complex ca imunitatea s-ar datora unui anumit factor unic, unei anumite proprietăți unice a plantei. Ele pierd din vedere că planta reacționează diferit la atacul unor paraziți diferiți, de asemenea că anumite grupuri de paraziți au posibilități variate de a învinge rezistența opusă de gazdă.

Relațiile dintre parazit și gazdă, atacul și reacția gazdei la atac, cu urmările corespunzătoare, se stabilesc în primă instanță pe baza aportului și proprietăților fiecărui partener, în cadrul unor condiții date.

În ceea ce privește aportul microorganismelor fitopatogene, atrage în mod deosebit atenția grupul de substanțe cunoscut sub denumirea generică de toxine, care sînt produse ale metabolismului. Acest grup cuprinde un mare număr de compuși chimici, de la cei mai simpli (amoniac, uree, acetonă, alcooli, aldehide, acizi, amine simple, cum sînt toxinele ruginilor, ale ciupercilor *Verticillium*, *Fusarium*, *Botrytis*), pînă la cei mai complecși (mucopolizaharide, proteine).

Una din componentele cele mai importante ale toxinelor o reprezintă enzimele. Toxinele paraziților facultativi, care trăiesc pe organe slăbite sau omorîte în prealabil prin aceste toxine, au un echipament enzimatic foarte bogat, conținînd un mare număr de hidrolaze, esteraze și oxidaze. La paraziții obligați, care-și desăvîrșesc ciclul de dezvoltare în celula vie, acest echipament este mult mai redus ; în special nu s-au găsit oxidaze, amidaze și proteaze. De altfel, paraziții obligați au fost și mult mai puțin studiați.

Parazitul nu acționează însă numai prin intermediul enzimelor prezente în echipamentul său enzimatic, ci și prin enzime de adaptare. Geneza acestora, funcție foarte strînsă de tipul de nutriție atît al parazitului cît și al gazdei, oglindește în bună măsură posibilitățile de adaptare ale microorganismelor. V. A. A x e n o v a a arătat de exemplu că ciuperca *Phytophthora infestans* nu prezintă activitate citocromoxidazică dacă a fost crescută pe mediu obișnuit de agar, pe cînd aceeași ciupercă crescută pe mediu de cartof prezintă o activitate citocromoxidazică foarte pronunțată.

În afară de toxine, paraziții eliberează și diferite substanțe cu efect stimulator : antibiotice, vitamine, substanțe de creștere. Sînt o serie de indicii că relațiile simbiotice și virulența sînt strîns legate de nevoia de aceste substanțe a organismelor respective.

Parazitul aduce deci în lupta cu planta gazdă o „muniție" metabolică foarte eficace. Acțiunii acesteia i se pot opune imunitatea naturală pasivă sau cea activă a plantei.

Pentru cea dintîi au o deosebită însemnătate macro- și microstructura anatomică a plantei gazdă, deoarece parazitul poate pătrunde în plantă fie pe căi naturale (stomate, pori ș.a.), fie străbătînd țesuturile ei de apărare, pe care le atacă cu ajutorul enzimelor sale sau chiar cu enzimele gazdei, stimulîndu-le activitatea.

O dată ce parazitul a pătruns prin aceste bariere, un rol important în apărarea plantei revine sucului celular, cu componența și proprietățile sale : pH-ul, concentrația în săruri, presiunea osmotică, prezența a diferite componente chimice care pot avea rolul de toxine față de parazit (fenoli, antociane, enzime ș.a.).

Marea majoritate a plantelor superioare conține substanțe cu acțiune antibiotică, denumite de B. P. T o k i n fitoncide și studiate în timpul din urmă, ca factori ai imunității, de K. T. S u h o r u k o v și colaboratorii săi. Ele nu reprezintă însă un sistem universal de apărare.

Unul din primele efecte ale pătrunderii parazitului în celulă este mărirea permeabilității stratului marginal de protoplasmă prin intermediul metaboliților eliberați. Urmează o rapidă mărire a exosmozei diferitelor combinații anorganice și organice. La soiurile sensibile exosmoza este mult mai accentuată decît la soiurile rezistente. Modificarea permeabilității duce totodată la o serie de modificări ale biocoloizilor protoplasmei, în special la schimbarea punctului izoelectric.

Într-un mare număr de boli se observă o dereglare a metabolismului apei. Ca urmare a creșterii permeabilității protoplasmei și a scăderii puterii de reținere a apei de către coloizii protoplasmatici, transpirația crește, puterea de absorbție a rădăcinilor scade și, în unele cazuri, scade și viteza de circulație a sevei. Toate acestea duc la o modificare a activității enzimatice, care se răsfrînge asupra raportului asimilație-dezasimilație, completînd tabloul neajunsurilor provocate direct de toxine, prin neajunsuri de nutriție. S-a constatat că pierderile de apă se datoresc și modificării ritmului de deschidere a stomatelor, ca urmare a scăderii activității fosforilazei în celulele stomatice.

Denaturarea structurilor celulare în celulele infectate se repercutează și asupra funcționării aparatului fotosintetic. Decoordonarea unor verigi ale sistemului catalitic duce la dereglarea prelucrării produșilor primari ai fotosintezei și a transportului lor în diferitele organe. În afară de aceasta se produce o activare a proceselor de depolimerizare a glucidelor superioare complexe și a proteinelor, nu numai de către enzimele parazitului, ci și de către enzimele proprii activate de parazit. De exemplu, la soiurile sensibile de cartof atacate de mană are loc hidroliza amidonului. Cum însă ciuperca nu conține amilază, înseamnă că hidroliza se face cu enzime proprii, dacă nu ținem seama de posibilitatea distrugerii de către parazit a sistoamilazei, inhibitorul amilazei din cartof. La soiurile rezistente acest fenomen nu are loc. Monomerii formați în urma hidrolizei nu se acumulează însă, viteza de formare fiind depășită de viteza de folosire pentru sinteza proteinelor și a polizaharidelor în organele vegetative și generative ale parazitului, ceea ce explică și modificările pe care le suferă bilanțul formelor solubile și insolubile ale combinațiilor azotoase și glucidice din celula infectată.

În reacția gazdei la intervenția parazitului, un loc deosebit de important revine modificărilor pe care le suferă procesul respirator și metabolismul energetic, problemă care a făcut obiectul unui capitol special al raportului prezentat la consfătuire de B. A. Rubin. Se poate spune că, în cazul atacului paraziților, reacția universală este intensificarea respirației, atît la soiurile rezistente cît și la cele sensibile. La cele dintîi intensificarea se prelungește timp îndelungat, la cele din urmă ea este de scurtă durată. Fenomenul stă în legătură cu faptul că diferitele enzime rezistă în mod diferit la acțiunea toxinelor. La soiurile rezistente, pătrunderea parazitului în celulă provoacă o restructurare a aparatului enzimatic ce participă la procesul respirator, în sensul punerii pe prim plan a enzimelor rezistente. Astfel, enzimele cu cupru sînt mai rezistente decît cele cu fier. Dintre cele dintîi, polifenoloxidaza este mai rezistentă decît ascorbinoxidaza, iar dintre cele din urmă, peroxidaza este mai rezistentă decît cito-

cromoxidaza. Cele mai rezistente sînt enzimele flavinice. T. M. Ivanova a arătat de pildă că la soiul de varză *Amager*, rezistent la *Botrytis*, în caz de infecție se activează puternic *d*-aminoacidoxidaza, ceea ce nu are loc și la soiurile sensibile. Aceasta corespunde modificărilor în activitatea peroxidazei, care este legată de activitatea enzimelor flavinice prin apa oxigenată formată de acestea. S-a arătat de asemenea că în celulele soiurilor rezistente se acumulează aminoacizi și că prin oxidarea acestora se ajunge la o acumulare de amoniac, care formează o barieră chimică în calea răspîndirii parazitului.

Se poate afirma deci că rezistența este, în fond, expresia opoziției celulei la dezorganizarea sistemului oxidativ de către toxine. Activitatea oxidativă intensă, proprie țesuturilor rezistente, este folosită atît pentru degradarea oxidativă a toxinelor și menținerea integrității structurilor celulare cît și pentru păstrarea unui anumit nivel al proceselor de sinteză, în legătură cu formarea cutinei și a suberului, care stau la baza țesuturilor de apărare.

Mecanismul rezistenței la parazitii obligați a fost mai puțin cercetat. Se știe că, la soiurile rezistente, o dată cu pătrunderea parazitului are loc o reacție violentă, care se soldează cu moartea celulei și totodată a parazitului. Se poate vorbi în acest caz despre o rezistență prin hipersensibilitate. V. A. Axenova a cercetat natura hipersensibilității la cartofii atacați de mană, găsind că în țesuturile rezistente au loc, în caz de infecție, o creștere apreciabilă a activității polifenoloxidazei și o scădere a activității dehidrazelor. În afară de alte substanțe prezente, acidul clorogenic este un substrat foarte bun pentru polifenoloxidază. Baza mecanismului de oxido-reducere o formează în aceste țesuturi sistemul polifenoli-polifenoloxidază iar datorită activării lui cît și slabei activități dehidrazice are loc acumularea produșilor de oxidare respectivi, anume a chinonelor, care nu se găsesc în celulele neinfectate și care, fiind toxice, duc rapid la moartea celulei ca și a hifelor pătrunse în ea. În această privință contează și structura polifenolilor, gradul de toxicitate depinzînd de poziția relativă a hidroxililor și a radicalilor substituiți. La soiurile sensibile situația este diametral opusă. Activitatea dehidrazelor este crescută iar a polifenoloxidazei scăzută. În astfel de condiții celula continuă să trăiască și să funcționeze normal. Toate acestea arată rolul pe care transformarea oxidativă a polifenolilor îl joacă în reacția de apărare a plantei.

Cauzele toxicității produșilor de transformare ai polifenolilor sînt, probabil, denaturarea componentelor proteice ale protoplasmei și blocarea sistemului enzimatic a cărui activitate depinde în bună măsură de prezența grupelor -SH. Acumularea chinonelor formează o barieră și în calea dezvoltării parazitului. Este de asemenea importantă proprietatea de autooxidare a fenolilor, care duce la micșorarea concentrației de oxigen și, în cele din urmă, la sufocarea parazitului. Pe de altă parte, fenolii au un rol însemnat în apărarea plantei și prin participarea lor la formarea ligninei și a altor componente ale țesutului protector.

Cît privește modificările ce au loc în metabolismul energetic, s-a putut demonstra că, în caz de infecție, la soiurile sensibile se produce deco-

nectarea procesului respirator de procesul de fosforilare, pe cînd la soiurile rezistente fenomenul nu are loc. Dimpotrivă, în celulele infectate sinteza ATF este intensificată, ceea ce constituie şi una din cauzele intensificării respiraţiei.

Marea diversitate a paraziţilor şi a gazdelor, precum şi continua lor transformare fac deocamdată imposibilă elaborarea unor reguli generale despre comportarea partenerilor. Desigur, nu se poate afirma că sistemul oxidativ formează unicul mecanism răspunzător de întregul lanţ de reacţii ce au loc în urma interacţiunii dintre organismele auto- şi heterotrofe. Există şi o serie de alţi factori răspunzători, care trebuie căutaţi printre acele proprietăţi ale plantelor ce constituie imunitatea dobîndită.

Una din problemele încă neelucidate este aceea a existenţei sau inexistenţei anticorpilor. Din cauza particularităţilor morfologice şi anatomice ale plantelor, cercetările s-au lovit de serioase dificultăţi. K. T. Suhorukov a putut comunica totuşi, la consfătuire, o serie de experienţe de vacuum-infiltraţie care demonstrează că plantele posedă un mecanism capabil să formeze inhibitori specifici, analogi anticorpilor.

Plantele dispun şi de alte posibilităţi de apărare. Se ştie de pildă că administrarea de îngrăşăminte le măreşte rezistenţa la boli, în primul rînd prin creşterea vigurozităţii în general. În ultimul timp se dă o mare atenţie, în legătură cu aceasta, microelementelor. S. D. Strahov şi colaboratori au cercetat mult evoluţia parazitului din celulele unei gazde căreia i s-au administrat diferite microelemente. În multe cazuri, în special la ciupercile din clasa Ustilaginalelor, s-a observat că la soiurile rezistente la atacul parazitului rezistenţa se manifestă prin inducerea unei degenerări a hifelor, spre deosebire de soiurile sensibile, la care parazitul se dezvoltă nestînjenit. Fenomenul a fost denumit de S. D. Strahov imunitate fiziologică, dar mecanismul degenerării încă nu a fost explicat.

Datele lui S. D. Strahov sînt confirmate de rezultatele unei lucrări prezentate de delegaţia romînă, referitoare la tratarea seminţelor de porumb în vederea măririi rezistenţei plantelor la atacul de tăciune, provocat de ciuperca *Ustilago zeae* (C. Rafailă, V. Eşanu, C. Tuşa, Fl. Negulescu). Tratarea seminţelor cu microelemente a mărit, la anumite variante, rezistenţa faţă de acest parazit, precum şi recolta. S-a evidenţiat varianta de tratare a seminţelor cu zinc, la care atacul a fost redus aproape la jumătate. Această variantă a prezentat şi din punct de vedere biochimic o serie de particularităţi, plantele respective caracterizîndu-se printr-o activitate respiratorie şi peroxidazică simţitor mai intensă, în toate fazele de vegetaţie, decît aceea a plantelor martor, la care se constată un nivel general mai scăzut al activităţii enzimatice şi o scădere a activităţii respiratorii, în special în fazele mai înaintate ale atacului.

Rezistenţa sporită a plantelor relativ adulte, provenite din seminţe tratate cu microelemente, arată deci că microelementele administrate în primele momente de viaţă activă a germenului influenţează profund metabolismul acestuia, în aşa măsură încît modificările nu au un caracter temporar, ci se păstrează pe toată perioada de vegetaţie. De asemenea, se constată că schimbările biochimice provocate de unele microelemente conferă plantelor, printr-un mecanism încă necunoscut, proprietăţi imu-

nologice. La Institutul de cercetări agronomice al Academiei R.P.R. s-au inițiat cercetări referitoare la acest mecanism și există preocuparea atît pentru studiul biochimiei plantelor atacate cît și pentru caracterizarea din punct de vedere fiziologic, biochimic, morfologic și anatomic a însușirilor de rezistență și sensibilitate a plantelor față de anumiți paraziți.

Consfătuirea din capitala R. S. S. Moldovenești a constituit un moment important în coordonarea eforturilor cercetătorilor și practicienilor în domeniul imunității plantelor. Ea a lămurit situația actuală și a deschis noi perspective. Printre altele, a reieșit cu claritate ideea că trebuie încurajate cercetările teoretice, în scopul elaborării unor metode cît mai eficace de ameliorare și protecție a plantelor. Printre aceste cercetări, cele biochimice trebuie să ocupe un loc de frunte.

Institutul de cercetări agronomice
al Academiei R.P.R.,
Secția de fitopatologie, București

I. PROBLEME GENERALE. METODE DE CERCETARE

485. GABE I., *Un ultratermostat simplu pentru măsurători fizico-chimice de precizie.* Studii și cercet. chim., Iași, 1959, X, *1*, 131—135.

Se descrie construcția, cu mijloace simple, a unui ultradiatermostat de precizie care permite menținerea constantă a temperaturii într-un interval de temperatură cuprins între 18 și 30°C, cu o precizie de $\pm 0{,}001 - 0{,}002°$. Termostatul poate funcționa automat pînă la zece zile fără întrerupere.

L. Arnet

486. SIBI M., BATCU A., DRĂGAN M., FAIGHELIS C., ȘERBAN F., POPESCU C. și BUSUIOC A., *Metodă pentru cercetarea cistinei în urină.* Studii și cercet. med. Iași, 1959, *1*, 93—97.

Prin cromatografie sau electroforeză, cistina din urina bolnavilor de hepatită epidemică este separată de compușii sulfurați și de aminoacizi, iar porțiunea eluată este polarografiată. Ultima operație permite diferențierea cistinei de ceilalți compuși aminați cu un R_f foarte apropiat.

H. Strugali

487. COTĂESCU I., *Despre mecanismul metabolic al proceselor fiziologice.* Studii și cercet. med., Timișoara, 1958, V, *1*, 57—75.

Pe baza datelor moderne din literatură și a unor lucrări proprii, autorul tratează un paralelism între mecanismul biochimic și fenomenul fiziologic. Se dă o interpretare efectului Pasteur.

D. Moțet-Grigoraș

488. VANGHELOVICI M., *Contribuții la studiul biosintezei sterinelor.* Studii și cercet. med., Timișoara, 1958, **V**, *1*, 173—183.

Se face o sistematizare a lucrărilor care au adus dovezi în sprijinul teoriei autorului asupra biosintezei colesterolului pornind de la scualen. Se arată etapele intermediare ale biosintezei, în cadrul cărora se întîlnesc sterine mai primitive, din organisme simple.

D. Moțet-Grigoraș

489. CIURDARIU P., GHERMAN G., PAPILIAN V. V., PODUȚ ELENA și FEKETE T., *Studiu comparativ între reacția Lugol, proteinele plasmatice și puncția-biopsie hepatică.* Med. int., 1959, *3*, 455—460.

S-a studiat comparativ, pe 100 cazuri, valoarea reacției Lugol, puncția-biopsie hepatică și electroforeza proteinelor plasmatice. Din comparația între P.B.H. și reacția Lugol reiese că modificările metabolice observate histopatologic dau, în 72% din cazuri, rezultate negative la reacția Lugol, în hepatitele cronice 50%; reacția este pozitivă în 80% cazuri de hepatom. Electroforeza arată o corelație netă între reacția Lugol și γ-globuline, pozitivitatea reacției fiind probabil dată în special de γ-globulinele serice.

D. Cotariu

490. POPESCU E. R., *Achiziții recente în studiul metabolismului fierului și al eritropoezei.* Med. int., 1959, *7*, 1111—1114.

Referat general fără indicații bibliografice.

D. Cotariu

491. GUZNER N. și CSÖGÖR L., *Referat general asupra problemei fluorului.* Stomatol., 1959, **VI**, *1*, 3—12.

Referat general cu 48 indicații bibliografice.

C. Șelariu

492. SISAKIAN N. M., *Unele probleme filozofice ale biochimiei.* An. rom.-sov., biol., 1959, **XIII**, *3*, 13—32.

Referat general fără indicații bibliografice.

N. Luță-Moldoveanu

493. KUZIN A. M., TOKARSKAIA V. I. (MERENOVA), *Marcarea totală cu carbon radioactiv a substanțelor organice din plante, metodă de studiere a tulburărilor metabolismului.* An. rom.-sov., biol., 1959, **XIII**, *3*, 201—210.

Se studiază tulburările metabolismului sub acțiunea radiațiilor ionizante, folosind în acest scop plante în care toate substanțele organice sînt marcate cu C^{14}, prin creșterea lor

într-o atmosferă cu CO_2 marcat. Prin metoda folosită s-a arătat că are loc o creştere a cantităţii de substanţe organice ieşite prin exosmoză din rădăcinile plantelor iradiate şi s-a determinat natura acestor substante. Radiocromatogramele obţinute permit să se stabilească modificările proporţiilor metaboliţilor şi dispariţia sau apariţia de substanţe sub acţiunea unor anumiţi factori.

N. Luţă-Moldoveanu

II. BIOCHIMIA PROTIDELOR

III. BIOCHIMIA GLUCIDELOR

494. EKREM ŞERIF EGELI (Istambul), *Rolul ficatului în metabolismul glucidelor.* Med. int., 1959, *3*, 373—387.

Se expun rezultatele obţinute în studiul diferitelor aspecte ale metabolismului glucidelor, ca rezultat final al interacţiunii diferiţilor factori enzimatici şi hormonali. S-a urmărit efectul compuşilor de sulfonilurее asupra activităţii glucozo-6-fosfatazei hepatice la diabetici, efectul sulfonilureei asupra producerii glucozei hepatice la normali şi diabetici (scăderea glicer miei arteriale şi venoase după administrarea intravenoasă de nadisan), efectele compuşilo-sulfonilureei asupra glicogenolizei stimulate prin glucagon la indivizi normali şi asupra glicogenului hepatic.

D. Cotariu

IV. BIOCHIMIA LIPIDELOR

495. PRISS I. S., *Cîteva particularităţi ale modificărilor survenite în metabolismul lipidelor în cursul bolii hipertonice necomplicate.* An. rom.-sov., med. gen., 1959, **XI**, *1*, 47—59.

În stadiul de scleroză al bolii hipertonice valorile lipemiei şi colesterinemiei cresc ; iar în cazul unei durate prelungite a bolii, concentraţia de colesterină este normală. Scăderea raportului fosfolipide/colesterină poate fi atribuită nivelului scăzut al fosfolipidelor din serul sangvin iar scăderea indicelui de iod al lipidelor arată existenţa unor modificări în procesele oxidative ale metabolismului grăsimilor.

N. Luţă-Moldoveanu

V. ENZIME

496. COMOROŞAN S. şi MINCU I., *Fiziopatologia carboanhidrazei.* Med. int., 1959, *7*, 983—990.

Referat general cu 36 indicaţii bibliografice.

D. Cotariu

VI. VITAMINE, HORMONI ŞI ALŢI COMPUŞI BIOACTIVI

497. SCHWARTZ A., MADAR I. şi KIS Z., *Efectul inhibitor al corticosteroizilor extractului timic şi pantoponului asupra secreţiei de ACTH.* Studii şi cercet. med., Cluj, 1959, X, *1*, 63—68.

Corticosteronii, pantoponul şi extractul timic sensibilizează animalele la ACTH-ul exogen, întocmai ca şi hipofizectomia. Aceste substanţe blochează secreţia de ACTH. Nu se clarifică însă dacă este vorba de blocarea secreţiei propriu-zise sau de blocarea sintezei ACTH-ului. Din date preliminare, autorii conchid că pantoponul inhibă sinteza, iar prednisolonul secreţia de ACTH. Influenţa lor are loc prin intermediul centrilor hipotalamici.

C. Gurban

498. MUREŞANU P. L. şi PETREANU FL., *Contribuţiuni la cunoaşterea acţiunii stimulatorilor de creştere şi ierbicidului 2,4-D asupra procesului de descompunere biochimică a celulozei.* Studii şi cercet. agron., Timişoara, 1958, V, *3—4*, 19—25.

Acizii β-indolilacetic (I), α-naftoxiacetic (II), β-naftoxiacetic (III) şi ierbicidul 2,4-D (IV) în concentraţii de 5.10^{-4}, 5.10^{-6} şi 5.10^{-8} au o acţiune stimulatoare în procesul de descompunere biochimică a celulozei. La temperatura de 20—30°C, ordinea descrescîndă a eficacităţii acestor preparate a fost: I, III, IV, II, pe cînd la temperatura de 20—23°C şi la temperatura ambiantă de vară ordinea descrescîndă a fost: III, I, II IV.

H. Filipescu

499. COTĂESCU I., DEUTSCH L., VLAD L. şi HOPÎRTEANU M., *Acţiunea substanţelor cu nucleu steranic asupra metabolismului tisular.* Studii şi cercet. med., Timişoara, 1958, V, *1*, 27—56.

Substanţele cu nucleu steranic determină o întărire primară a efectului Pasteur, cu bilanţul fosforului labil pozitiv, prin predominanţa fosforilării oxidative asupra vitezei de utilizare a fosforului labil (63 referinţe).

D. Moţet-Grigoraş

500. LUPULESCU A., CONSTANTINIU I. şi BABACA P., *Edemul şi hormonii.* Med. int., 1959, *7*, 971—982.

Referat general cu 34 indicaţii bibliografice.

D. Cotariu

501. ALEŞIN B. V., *Formarea hormonilor lobului posterior al hipofizei şi influenţa lor asupra activităţii adenohipofizei.* An. rom.-sov., biol., 1959, **XIII**, *3*, 119—142.

Referat general cu 120 indicaţii bibliografice.

N. Luţă-Moldoveanu

VII. BIOCHIMIA MICROBILOR. VIRUSURI. BACTERIOFAGI. ANTIBIOTICE. IMUNOCHIMIE

VIII. BIOCHIMIE VEGETALĂ

502. ENĂCHESCU E., SAVINOVA N. şi MARINESCU R., *Modificări biochimice în timpul perioadei de vegetaţie la tomate, cultivate în faza de răsad în ghivece nutritive.* Com. Acad. R.P.R., 1959, **IX**, *8*, 823—829.

Activitatea catalazei cît şi conţinutul în acid ascorbic al frunzelor scad fără încetare în cursul perioadei de vegetaţie iar conţinutul în clorofilă este minim în timpul înfloririi. Un conţinut mare în acid ascorbic se observă la fructele din august iar la fructele din septembrie se remarcă mai multă substanţă uscată în suc, cenuşă, proteină brută şi aciditate.

M. A. Dimitriu

503. PANDELE I. şi POPA D., *Dinamica carotenului şi a principalelor componente chimice în cursul perioadei de creştere a rădăcinii de morcov.* Studii şi cercet. biol., biol. veg., 1959, **XI**, *4*, 417—433.

Cercetările urmărite timp de trei ani cu soiurile *Cartel, Guérande* şi de *Nantes* au arătat că acumularea maximă a substanţelor minerale şi proteice are loc la aceeaşi dată la toate aceste soiuri şi o precede pe aceea a zaharurilor şi a carotenului, în acumularea cărora se manifestă mai evident specificul de soi. Acumularea maximă a carotenului se realizează după atingerea conţinutului maxim de zahăr, cu un decalaj de 14 pînă la 30 de zile, după soi. Între desfăşurarea procesului de creştere a rădăcinilor şi evoluţia carotenului există un paralelism.

H. Filipescu

504. SINIUHIN A. M., *Rolul modificărilor potenţialului de oxidoreducere în procesul de regenerare a plantelor.* An. rom-sov., biol., 1959, **XIII**, *1*, 48—60.

În faza de formare a calusurilor pe tulpina de pătlăgele roşii, se modifică potenţialul oxido-reducător al celulelor şi se accelerează procesul de regenerare a plantelor tratate cu substanţe reducătoare în concentraţii mici. Prin tratarea ţesuturilor cu agenţi oxidanţi, formarea de calusuri încetează. Atît oxidanţii cît şi substanţele reducătoare produc, paralel cu variaţia potenţialului de oxido-reducere şi variaţii ale potenţialelor bioelectrice.

N. Luţă-Moldoveanu

IX. BIOCHIMIE ANIMALĂ

505. MISON-CRIGHEL N., CONSTANTINESCU E. şi CRIGHEL E., *Cercetări electrocorticografice şi biochimice în excitaţie şi inhibiţie. Aspectul electrocorticografic şi modificările glicogenului, ATP-ului şi acidului lactic din creierul de şobolan.* Studii şi cercet. neur., 1959, **IV**, *3*, 337—348.

Starea de excitaţie produsă prin injectarea de 4 mg de cafeină natriu benzoică (I) pe 100 g corp duce la creşterea semnificativă a ATP-ului şi a acidului lactic din creier, pe cînd glicogenul rămîne nemodificat. La inhibiţia supraliminară, produsă prin injecţia de 0,02 sau 0,04 g de (I) pe 100 g corp, glicogenul din creier este semnificativ scăzut, acidul lactic crescut iar ATP-ul prezintă variaţii necaracteristice. În inhibiţia postconvulsivă, produsă prin electroşoc, glicogenul şi acidul lactic din creier cresc semnificativ iar ATP-ul nu se modifică. Stările de epuizare neuronală, prin electroşoc cu 50 V şi 4 s durată, duc la scăderea semnificativă a ATP-ului din creier, glicogenul rămînînd nemodificat.

L. Arnet

506. WIENER F. şi BABONITS M., *Corelaţii topochimice în ţesutul de granulaţie şi epiteliul din plăgile cutanate la şobolanii albi. I. Fosfataza alcalină şi glicogenul.* Morfol. norm., pat., 1959, **IV**, *1*, 79—85.

În straturile ţesutului de granulaţie şi în celulele cu activitate metabolică intensă, activitatea enzimatică este pronunţată şi glicogenul absent.

C. Şelariu

507. CIUREA V., NEGREA A. şi MICIU M., *Localizarea potasiului în nervii periferici şi modificările lui sub influenţa novocainei.* Morfol. norm., pat., 1959, **IV**, *3*, 217—221.

Determinarea localizării potasiului la nivelul strangulaţiilor lui Ranvier ale fibrei nervoase mielinice s-a făcut cu cobaltinitrit de sodiu. Sub influenţa novocainei, se observă deplasarea potasiului în interiorul membranei Schwann de-a lungul nervului şi dispersat în afara membranei Schwann.

C. Şelariu

508. DEZSI Z. şi BASKÓ B., *Date asupra mecanismului de acţiune a tricloretilenului.* Obstetr., ginecol., 1959, **VI**, *2*, 141—144.

Tricloretilenul lucrînd asupra cornului izolat al uterului de cobai micşorează tonusul şi motilitatea spontană a uterului; este considerat spasmolitic, oprind atît spasmele neurogene, cît şi pe cele miogene. Are deci atît acţiune centrală, cît şi periferică, atacînd terminaţiile colinergice şi fibra musculară netedă.

C. Şelariu

509. TACU A., POPESCU FR. şi NEDELNIUC V., *Variaţia cloremiei la vacile de lapte.* Probl. zoot. vet., 1959, *12*, 15—21.

S-a urmărit variaţia cloremiei serului sangvin, la un lot de 22 vaci roşii de lapte, în funcţie de sezon, luni de lactaţie, repaus mamar şi luni de gestaţie. S-a constatat un maxim în februarie (420 mg Cl%) şi un minim în octombrie (340 mg). În perioadele de lactaţie şi de repaus mamar variaţiile sînt neînsemnate. În perioada de gestaţie cloremia creşte (de la 354 mg) pînă în luna a 5-a (383 mg), apoi scade treptat pînă în luna a 9-a (351 mg).

H. Filipescu

510. LECA-RADU MINA, *Modificările carboanhidrazei sanguine şi indofenoloxidazelor leucocitare în intoxicaţia cronică cu benzen şi monoclorbenzen.* Rev. igienă, 1959, *3*, 231—240.

Creşterea activităţii anhidrazei carbonice din sîngele şobolanilor albi în prima perioadă de intoxicaţie cronică cu benzen sau monoclorbenzen se explică prin apariţia acidozei provocate de toxice; scăderea ulterioară a activităţii enzimei denotă instalarea stării preseptice caracteristice benzenismului avansat. Scăderea paralelă a activităţii indofenoloxidazelor leucocitare indică modificări ale oxidărilor celulare.

A. Popescu

511. PALLADE S. şi ROVENŢA A., *Eliminarea fluorului prin urină în intoxicaţia acută experimentală cu superfosfat.* Rev. igienă, 1959, *3*, 241—248.

În intoxicaţia cu superfosfat a iepurilor are loc o eliminare de fluor prin urină. Acest fapt confirmă că toxicitatea superfosfatului se datoreşte conţinutului său în săruri ale fluorului. Se sugerează determinarea fluorului urinar la muncitorii din industria de superfosfat.

A. Popescu

512. LIBINZON R. E., *Modificările biochimice produse de acţiunea dozelor mari de radiaţii ionizante.* An. rom.-sov., biol., 1959, **XIII**, *3*, 51—64.

La cîini, dozele mari de radiaţii γ produc scăderi accentuate în conţinutul acizilor dezoxiribonucleici şi ribonucleici din măduva oaselor, ceva mai puţin accentuate a celor din vezica biliară şi într-o măsură şi mai mică a celor din ficat. La şobolani iradiaţi cu doze de 50 şi 10 Kr, activitatea colinesterazei şi adenozintrifosfatazei din encefal, muşchi şi mucoasa intestinală rămîne neschimbată iar activitatea adenozintrifosfatazei din măduva oaselor scade cu 50%.

N. Luţă-Moldoveanu

X. BIOCHIMIE MEDICALĂ

513. KREINDLER A., MISON-CRIGHEL N. şi LUCA NOEMI, *Cercetări asupra metabolismului glucido-fosforic la bolnavii de nevroză astenieă.* Studii şi cercet. neur., 1959, **IV**, *4*, 487—497.

S-au cercetat la 34 bolnavi de nevroză astenică şi la 24 de martori, testul de toleranţă la glucoză, modificările acidului lactic şi piruvic, ale fosforului anorganic, fosforului total acidosolubil şi adenosintrifosfatului în sînge şi, concomitent, excreţia acizilor lactic şi piruvic şi a fosforului anorganic în urină, în timpul acestui test. S-a constatat că nu există o corelaţie strînsă între fenomenele clinice şi cele biochimice.

I.. Arnet

514. MAFTEI E., GORUN V. şi BOTA R., *Contribuţii la studiul mucoproteinuriei şi a indicelui de haptoglobinemie în hepatitele infecţioase.* Studii şi cercet. med., Cluj, 1959, **X**, *1*, 71—75.

Autorii propun reacţia lui Donaggio şi indicele de haptoglobinemie ca teste de cercetare a stării ficatului. Aceste probe ar prezenta interes pentru aprecierea mersului însănătoşirii.

C. Gurban

515. FODOR E., ABEL CH., MANASIA M. şi ŞANTAY I., *Aplicarea terapeutică a acidului aspartic în suferinţele hepatice.* Studii şi cercet. med., Cluj, 1959, **X**, *1*, 124—126.

Administrarea acidului aspartic în perfuzie lentă intravenoasă, în doză de 1 g pe zi timp de 15 zile, are un efect favorabil în hepatitele cronice.

C. Gurban

516. COMOROŞAN S., *Exosmoza electroliţilor din piele în unele afecţiuni dermatologice.* Dermatovener., 1959, **IV**, *1*, 53—58.

Exosmoza electroliţilor din piele poate servi ca indice pentru unele cercetări clinice relative la evoluţia unor afecţiuni dermice şi pentru procesele biochimice ce au loc la nivelul leziunilor.

C. Şelariu

517. MUNTEANU M. şi TRANDAFIRESCU M., *Cercetări electroforetice în diferite forme ale infecţiei sifilitice.* Dermatovener., 1959, **IV**, *5*, 415—421.

α-globulinele cresc în 50% din cazurile de sifilis primar şi de sifilis terţiar; β-globulinele scad în perioada primară; γ-globulinele cresc 100% în sifilisul secundar, terţiar şi tabes. Refractometric se constată o hiposerinemie în 64% din cazuri, o hiperglobulinemie în 77% şi o scădere a raportului serine/globuline în 89% din cazuri.

C. Şelariu

518. APREOTESEI C., *Considerații biochimice asupra coagulării sanguine și medicamentele active în acest proces.* Farmacia, 1959, *6*, 481—493.

Referat general cu 8 indicații bibliografice.

L. Arnet

519. VISA GH., APREOTESEI C., VAINER E. și GHEORGHIU D., *Excreția de 17-cetosteroizi la bolnavii cu tuberculoză pulmonară.* Ftiziol., 1959, **VIII**, *5*, 425—432.

Eliminarea 17-cetosteroizilor este scăzută la 60% din cazurile cercetate. Ea este scăzută în formele incipiente congestive, în tuberculoza extinsă exsudativă și foarte scăzută în formele fibro-cavitare.

C. Șelariu

520. BRAUNER R. și SORU EUGENIA, *Acțiunea citocromului C în insuficiența cardiacă.* Med. int., 1959, *6*, 825—832.

Citocromul prezintă, în multe cazuri de insuficiență cardiacă, o acțiune favorabilă asupra tulburărilor respiratorii. Acțiunea lui favorabilă se manifestă și asupra cianozei. Citocromul C reprezintă un adjuvant important în tratamentul insuficienței cardiorespiratoare.

D. Cotariu

521. BRUCKNER I. și PURICE S., *Un nou criteriu de diagnostic al lupusului eritematos difuz: dozarea complementului seric.* Med. int., 1959, *6*, 833—836.

Pe un grup de 10 cazuri L.E.D. s-a dozat cu ajutorul tehnicii de hemoliză 50% valoarea complementară a sîngelui, observîndu-se în toate cazurile scăderi maximale ale alexemiei în perioadele evolutive ale bolii. Se propune dozarea complementului seric ca metodă de diagnostic în L.E.D.

D. Cotariu

522. ILIESCU C. C., ROMAN L., NICOLAESCU V. și CONSTANTINESCU S., *Valoarea diagnostică și prognostică a fibrinogenemiei la bolnavii coronarieni.* Med. int., 1959, *6*, 877—882.

La bolnavii cu infarct miocardic, fibrinogenul plasmatic a fost găsit crescut între a 3-a și a 15-a zi de evoluție. La bolnavii cu angine pectorale sau insuficiență coronariană acută, fibrinogenemia determinată în primele zile ale evoluției bolii a fost găsită în limite normale.

D. Cotariu

523. STOICHIŢĂ MIHAELA, GHEORGHIU-TEICAN MARIA şi BANDI VERA, *Studiu asupra modificărilor calitative ale fibrinogenului. Nota I. Testul de polimerizare a fibrinogenului în diverse afecţiuni.* Med. int., 1959, *6*, 951—954.

Testul este pozitiv în cazuri de purpură alergică, astm, eczemă, flebite, angină pectorală, infarct şi unele ciroze. Este negativ în cazuri de ateroscleroză, endocardită lentă, insuficienţă cardiacă, afecţiuni pulmonare cronice, afecţiuni ale tractusului digestiv şi ale căilor biliare.

D. Cotariu

524. NEAGA V. şi HARTH A., *Aspecte ale disproteinemiei în unele dermatoze.* Obstetr., ginecol., 1959, **IV**, *1*, 47—52.

Rezultatele obţinute nu pot fi considerate specifice, dar pot furniza uneori date utile pentru prognostic.

C. Şelariu

525. PERJU Al. şi POPESCU N., *Studiul resorbţiei iodului radioactiv (I^{131}) prin mucoasa vaginală în infestaţiile cu Trichomonas vaginalis.* Obstetr., ginecol., 1959, **VI**, *3*, 219—224.

Resorbţia I^{131} prin mucoasa vaginală variază în funcţie de stadiul dinamic al infestaţiei tricomonazice. La 10 min se resoarbe în stadiu acut-recent 19,2%, în stadiu culminant 11,48—22,71% iar în stadiu cronic 6,4—14,4%.

C. Şelariu

526. BURDEA M., MUSTAŢĂ C., HOLBAN L., GUGLES E. şi TRIFAN E., *Modificări biochimice în transpiraţia copiilor distrofici şi rahitici.* Pediatria, 1959, **VIII**, *1*, 33—39.

Concentraţia ionilor de clor şi sodiu în transpiraţia copiilor distrofici este mult crescută faţă de martor, ceva mai puţin crescută la cei rahitici. Această concentraţie mărită nu este în legătură cu debitul sudoral. Fracţiile proteice par a fi şi ele crescute, dar necesită studii ulterioare.

C. Şelariu

527. ŢURCANU L., ALEXANDRU E., SOLYMOS G., MEDREA C., MOGOŞAN A., ELIAS M. şi ROŞCOVAN A., *Modificările hidroelectrice în cursul insuficienţei renale acute la copii.* Pediatria, 1959 **VIII**, *3*, 203—208.

În sînge se găseşte o scădere a clorului, a sodiului, a proteinelor cu raportul albumine/globuline inversat şi a magneziului şi o creştere a sulfului şi a fosforului. Calciul rămîne în limite normale.

C. Şelariu

528. GAVRILESCU N. şi BERDAN C., *Metabolismul energetic şi echilibrul hidro-salin la muncitorii dintr-un atelier cu temperatură ridicată.* Rev. igienă, 1959, *3*, 223—230.

Analiza metabolismului energetic la 50 muncitori şi a echilibrului hidro-salin la 28 muncitori arată că intensitatea travaliului efectuat a variat între 3,12 şi 6,5 cal/kilocorp/oră iar metabolismul energetic între 3079 şi 4015 cal/24 ore. Majoritatea muncitorilor au prezentat bilanţ hidric negativ şi cloremie scăzută.

A. Popescu

529. GONŢEA I., ŞUŢESCU P. şi JANTEA F., *Cercetări asupra nevoii de proteine a omului în muncă. I. Concentraţia azotului total din sudoare.* Rev. igienă, 1959, *3*, 249—258.

Azotul total din sudoare, determinat la 63 persoane supuse la efort 6—8 ore zilnic (cicloergometru) timp de 2 pînă la 8 zile, a variat între 0,30 şi 0,55 g/l (valoarea medie 0,43 g/l). Cu creşterea volumului de sudoare, conţinutul ei în azot scade. Volumul de sudoare eliminat poate servi la evaluarea pierderii transcutanate de azot, folosindu-se concentraţia medie 0,45 g N/l în cazul persoanelor care transpiră pînă la 400 ml/oră, şi 0,36 g/l pentru cele care transpiră volume mai mari.

A. Popescu

530. GONŢEA I., ŞUŢESCU P. şi DUMITRACHE S., *Cercetări asupra nevoii de proteine a omului în muncă. II. Influenţa efortului fizic asupra bilanţului azotat.* Rev. igienă, 1959, *4*, 297—306.

Bilanţul azotat pozitiv prezentat de 9 persoane în perioada precedînd efortul a devenit negativ la 8 persoane în timpul lucrului la cicloergometru (cîte 400—900 Kgm/zilnic, timp de 4—12 zile). Negativitatea bilanţului se datoreşte excreţiei de azot prin urină şi sudoare. Se conchide că raţia de 1 g proteine/kilocorp cu care s-au hrănit persoanele cercetate şi care este suficientă pentru activitatea sedentară, este insuficientă în cazul efortului fizic.

A. Popescu

531. KÖPPICH F. şi BLANC GOLDA, *Concepţia actuală asupra bilirubinei directe şi indirecte şi semnificaţia ei în patologie.* Viaţa med., 1959, *9*, 783—789.

Referat general cu 21 indicaţii bibliografice.

L. Arnet

XI. BIOCHIMIA NUTRIȚIEI

XII. BIOCHIMIE TEHNICĂ

XIII. FARMACOLOGIE. TOXICOLOGIE

532. OERIU S., MOGA V., BERTESCU L., MIRCEA B., BENESCH H., CRĂCEA M. CARP N. și TIGHECIU M., *Recherches en vue d'obtenir des produits à action tuberculostatique. I. Etude chimique et biologique de quelques dérivés des plantes supérieures, notamment des résines extraites des différentes espèces de conifères.* Revue de chimie, 1959, **IV**, *1*, 41—54.

S-a constatat că rășini provenind de la unele conifere și recoltate în anumite perioade ale anului au acțiune marcată asupra B. K. și mai slabă asupra altor germeni. De asemenea s-au stabilit unele relații între proprietățile fizico-chimice ale unor astfel de produși naturali și ale derivaților acestora pe de o parte și activitatea lor biologică pe de altă parte.

D. Moțet-Grigoraș

533. MĂMĂLIGĂ X. și GHEORGHE S. D., *Poliarograficeskoe isledovanie mejfaznoi aktivnosti nekotorîh solei cetverticinîh amonievîh osnovanii tipa bis oniiațetil proizvodnîh orto-, meta- i parafenilendiamina i benzidina.* Revue de chimie, 1959, **IV**, *1*, 109—117.

Autorii cercetează activitatea superficială a 20 de săruri cuaternare de amoniu prin capacitatea acestora de a reduce maximul polarografic al oxigenului. Se constată un paralelism între activitatea interfacială și acțiunea curarizantă a acestor compuși.

D. Moțet-Grigoraș

534. ȘERBAN M., *Deistvie nekotorîh solei cetverticinîh amonievîh osnovanii s kurarepodobnoi aktivnostiv na poliarograficeskoe povedenie țistina.* Revue de chimie, 1959, **IV**, *1*, 119—128.

Se constată o exaltare a undei polarografice catalitice a cistinei, sub influența unor săruri cuaternare de amoniu cu acțiune curarizantă. Fenomenul este atribuit activării grupei tiol legată coordinativ în complexul de cobalt, ceea ce determină labilizarea hidrogenului grupei. -SH. Această acțiune pare a fi dependentă de prezența grupelor de amoniu cuaternar.

D. Moțet-Grigoraș

SESIUNEA ȘTIINȚIFICĂ ANUALĂ A INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE

În zilele de 9 și 10 decembrie 1959 a avut loc la Institutul de biochimie sesiunea științifică anuală, în care s-au prezentat de către cercetători referate de ansamblu pe problemele studiate în cadrul Institutului.

Ordinea de zi a fost următoarea :

— Miercuri, 9 decembrie 1959

Acad. E. Macovschi, *Cuvînt de deschidere a sesiunii.*

Dragi tovarăși,

Sesiunea aceasta se va deosebi de sesiunea precedentă din 1957, prin faptul că în locul lucrărilor originale disparate, vom prezenta activitatea de cercetare științifică desfășurată în diferite probleme de plan sub forma unor referate de ansamblu. În felul acesta, vom arăta natura și importanța problemelor din tematica Institutului de biochimie, evoluția cercetărilor efectuate, legătura dintre diferitele lucrări comunicate și publicate între timp, precum și obiectivele pe care dorim să le atingem în viitorul apropiat. Socotim că o astfel de prezentare va permite trecerea la o discuție principială și critică în legătură cu tematica noastră, ceea ce va contribui desigur la îmbunătățirea planului nostru științific.

Sesiunile științifice sînt mari sărbători pentru institutul respectiv. Și cum la sărbători mari, la bucuriile prezentului se adaugă și amintirile din trecut, tot astfel, cu ocazia acestei sesiuni, să aruncăm o privire înapoi, să împrospătăm în memorie unele imagini apuse.

Ne aducem aminte cum acum 7 ani, în 1952, tot aici, a avut loc inaugurarea festivă a Institutului de biochimie. Cartea de aur a Institutului păstrează semnăturile celor care au luat parte la această solemnitate. Unii dintre ei, ca acad. T. Săvulescu și acad. C. I. Parhon au contribuit mult la înființarea Institutului de biochimie. Gîndurile noastre se îndreaptă spre ei și le dorim multă sănătate și viață lungă.

Amintiri frumoase ne-au rămas și de la sesiunea precedentă a Institutului, care a avut loc tot aici. Țin minte cît de adînc am fost mișcați primind de la regretatul Dr. Petru Groza, pe atunci Președinte al Marii Adunări Naționale, o telegramă urînd Institutului spor la muncă. A fost un gest de o atenție deosebită față de Institut, gest care ne dovedea grija celor ce conduc Statul nostru pentru dezvoltarea științei, gest pe care nu-l vom uita niciodată.

Simțim sprijinul puternic pe care forurile conducătoare ale Statului îl acordă științei din țara noastră. Nu uităm nici un moment că Institutul de biochimie în care ne aflăm este o

creație a regimului nostru de democrație populară. De aceea, cu ocazia acestei sesiuni, exprimăm încă o dată Partidului și Guvernului recunoștință profundă pentru sprijinul pe care îl acordă științei și pentru sprijinul pe care îl acordă Institutului de biochimie. Datoria noastră, a tuturor, este să răspundem prin muncă devotată și cît mai productivă pusă în slujba păcii și a construirii socialismului în patria noastră.

Urez mult succes sesiunii noastre!

V. Gheție și L. Buzilă, *Date noi în domeniul proteinelor vegetale.*

S-au prezentat rezultatele cercetărilor efectuate de referenți cu privire la proprietățile complexului proteic din sămînța de fasole (cotiledoane și embrion) și la modificările ce se produc la nivelul acestui complex în procesul germinativ, precum și cu privire la natura proteinelor ce se formează în țesutul foliar, în raport cu formațiunile intracelulare din care provin (citoplasmă sau vacuole). S-au caracterizat din punct de vedere fizico-chimic proteinele din sămînță. Aceste proteine suferă în procesul germinativ modificări care afectează inegal cele două componente principale albumina și globulina. Globulinele se hidrolizează și o parte din aminoacizii rezultați este folosită la resinteza proteinelor tisulare. Din acest motiv, globulinele pot fi considerate ca proteine de rezervă. Albuminele suferă modificări calitative care pot fi explicate prin activitatea lor în procesele de degradare enzimatică. În țesutul foliar proteinele se deosebesc între ele din punct de vedere fizico-chimic după cum provin din citoplasma sau vacuolele celulelor. S-a confirmat ipoteza lui Chibnall după care proteinele vacuolare au o individualitate chimică bine definită.

M. Șerban, D. Moțet-Grigoraș și D. Cotariu, *Evoluția substanțelor proteice din creier în filo- și ontogenie.*

Cercetările referenților au arătat că atît pe plan filogenetic cît și în cursul dezvoltării individuale se produc modificări specifice la nivelul acestor proteine, în funcție de gradul de evoluție. Prin electroforeza proteinelor solubile din creier s-a putut pune în evidență o diferențiere calitativă în filogenie, o dată cu evoluția, diferențiere care se manifestă prin creșterea numărului de fracțiuni proteice. La animalele mai evoluate (păsări, mamifere) proteinele creierului conțin și fracțiuni prealbuminice specifice. În filogenie se semnalează și o distribuție cantitativă deosebită a fracțiunilor. Proteinele cerebrale prezintă o comportare deosebită și la salifiere. Cercetări de natură enzimatică și anume hidroliza triptică a proteinelor din creierul diferitelor animale ar indica existența în materia cerebrală a unor pături superficiale ușor atacabile de către tripsină, sărace în tirozină, în timp ce alte pături mai profunde sînt mai rezistente față de hidroliza enzimatică și mai bogate în tirozină. Modificări la nivelul proteinelor din creier au fost puse în evidență și în cursul dezvoltării organismului. În acest sens, o dată cu un salt în activitatea senzorială și motorie, determinat de apariția vederii la nivelul moleculelor proteice se produc anumite modificări calitative. Aceste modificări presupun o mascare a grupărilor active (polarografic) fie prin creșterea moleculei proteice fie prin formarea de structuri mai complicate, în legătură cu complexarea activității cerebrale.

E. Soru, M. Istrati, D. Tănăsescu și S. Comoroșan, *Contribuții la studiul chimic și imunochimic al stafilocoagulazei.*

Textul lucrării este publicat în prezentul număr al acestei reviste.

V. Alexandrescu, L. Arnet şi D. Cotariu, *Influenţa mucusului biliar asupra activităţii enzimelor digestive* în vitro.

Cercetările în acest domeniu au arătat că mucusul biliar nu exercită nici o influenţă asupra degradării amidonului de către amilazele salivară şi pancreatică şi asupra degradării caseinei de către tripsină în condiţiile unui mediu de reacţie microeterogen. În prezenţa emulsiei de toluen mucusul micşorează considerabil efectul inhibitor pe care suprafeţele picăturilor de emulsie îl exercită asupra amilolizei iar în prezenţa emulsiei de ulei, mucusul nu are nici o acţiune asupra reacţiilor respective. În ceea ce priveşte acţiunea mucusului biliar asupra hidrolizei lipidelor de către lipaza pancreatică *in vitro*, ea este în funcţie de substratul lipidic întrebuinţat. Se constată o acţiune inhibitoare pe substrat de tributirină şi o acţiune activatoare pe substrat de ulei de floarea-soarelui. Acţiunea mucusului biliar este asemănătoare, în ambele cazuri aceleia produse de albumină şi nu este exclus să fie datorită componenţei proteice a mucusului.

L. Arnet, S. Vasu, L. Soicher şi M. Cîrsteanu, *Relaţii între coacervate şi enzime.*

Direcţiile de cercetare alese de autori au fost stabilirea influenţei coacervatelor asupra reacţiilor enzimatice care se petrec în mediul exterior picăturii de coacervat precum şi stabilirea influenţei pe care enzimele din mediul înconjurător o pot exercita asupra coacervatului.

În cadrul primei direcţii de cercetare, s-a urmărit acţiunea ureazei asupra ureei, în prezenţa coacervatului protamină-gumă arabică şi acţiunea beta-amilazei asupra amidonului în prezenţa coacervatului gelatină-gumă arabică. În ambele cazuri, picăturile de coacervat micşorează viteza de hidroliză, înglobînd în ele o parte din enzime şi lăsînd în mediul înconjurator substratele respective aproape în totalitate. În prezent se studiază activitatea ribonucleazei în prezenţa acidului ribonucleic, ambele componente fiind adăugate sistemului gelatină-gumă arabică.

În cadrul celei de-a doua direcţii de cercetare, s-a urmărit formarea şi comportarea coacervatului gelatină-gumă arabică în prezenţa enzimelor proteolitice şi a unor sucuri digestive. Pepsina, tripsina şi în special papaina micşorează stabilitatea picăturilor de coacervat şi uneori împiedică procesul de coacervare. Probabil că enzimele proteolitice acţionează asupra coacervatului nu ca enzime, ci ca proteine. Sucul gastric şi cel duodenal exercită asupra coacervatului o acţiune similară aceleia a fermenţilor proteolitici. Ipoteza privitoare la natura fizico-chimică a interacţiunii dintre enzime şi coacervate este sprijinită de o serie de cercetări care au arătat că, în prezenţa coacervatului soluţiile de proteine (hemoglobină, ovalbumină etc.) au o acţiune asemănătoare aceleia exercitate de unele proteaze. Acţiunea coacervatolitică a lipazei asupra coacervatului gelatină-gumă arabică confirmă şi ea ipoteza că între enzimă şi substrat există o interacţiune de natură fizico-chimică.

M. Cîrsteanu şi D. Moţet-Grigoraş, *Coacervate cu proteine native.*

S-a studiat din punct de vedere al proprietăţilor şi comportării lui, un coacervat care să cuprindă substanţe proteice într-o stare cît mai apropiată de aceea din organismul viu. Coacervatul studiat de autori a fost obţinut din ser sanguin uman normal şi gumă

arabică, prin acidulare cu acid acetic. Polarografic s-a constatat că, utilizînd soluții de gumă arabică de diferite concentrații, se obține un punct în care înglobarea proteinelor serice în picături este maximă. Determinări electroforetice și de azot au arătat că globulinele, practic, nu participă la formarea coacervatului. Întreaga cantitate de colesterol ce o conține serul este înglobată prin coacervare în picături. Maximul de coacervare are loc la un pH în jur de 3,7. Coacervatul ser-gumă arabică poate înglobă diferite substanțe adăugate mediului. Determinările au arătat că gradul său de hidratare variază cu starea proteinelor native care participă la formarea lui, respectiv cu gradul de învechire a serului. De altfel, modificările profunde pe care proteinele încep să le sufere imediat după recoltarea serului pot fi sezisate comod prin fenomenul de coacervare.

— Joi, 10 decembrie 1959

Acad. E. Macovschi, *Materia vie și geneza ei.*

Faptul că între materia vie și cea nevie există o deosebire profundă din punct de vedere al însușirilor, al stărilor și legilor cărora li se supun, implică dezvoltarea unor concepții cu privire la natura intimă a materiei vii care să scoată în evidență deosebirea internă dintre cele două feluri de materii. Pornind de la concepția materialist-dialectică s-a arătat că pe lîngă materia nevie în care se produc reacții biochimice, protoplasma celulară vie trebuie să cuprindă și materie vie cu structură încă necunoscută, în cadrul căreia se produc reacții metabolice. Materia vie ar avea o structură „amoleculară" și în cazul încetării vieții s-ar desface în molecule. Protoplasma ar reprezenta astfel un „ansamblu viu" și s-ar fi format prima dată din coacervate în care ar fi apărut la un moment dat primele structuri corespunzătoare materiei vii.

Tr. Rădulescu, H. Schell, S. Gheorghe și L. Soicher, *Substanțe curarizante de sinteză.*

Cercetările care fac obiectul acestui referat sînt o continuare a lucrărilor anterioare și au la bază ipoteza făcută de acad. E. Macovschi asupra rolului jucat de grupările lipofile în determinarea activității curarizante a sărurilor cuaternare de amoniu. Au fost obținute 29 săruri cuaternare de amoniu, necunoscute în literatura de specialitate, făcînd parte din clasele derivate de la *p*-benzochinonă, benzalfluoren, stilbeni și trifenilmetan și sînt în lucru unii derivați ai antrachinonei și difenilmetanului. Produșii derivați de la benzalfluoren sînt colorați în galben iar unii care conțin în molecula lor gruparea auxocromă dimetilamino sînt portocalii. Aceasta ar permite, eventual, urmărirea răspîndirii și fixării lor în organism. Rezultatele obținute prin studiul unor derivați din categoria benzalfluorenului pe organismul animal permit să se tragă concluzia că pentru o activitate curarizantă remarcabilă, nu este suficient ca în moleculă să existe două grupări de amoniu cuaternar, situate la o anumită distanță optimă, de 14—15 Å, ci mai trebuie ca radicalul dintre grupările de amoniu cuaternar să posede un grad de lipofilie care să permită substanței să se fixeze pe suprafața membranei lipo-proteice de la joncțiunea neuro-musculară și astfel să poată acționa prin sarcina pozitivă a atomului de azot al grupării acvofile.

X. Mămăligă, M. Şerban şi S. Gheorghe, *Utilizarea metodei polarografice în cercetarea substanţelor curarizante.*

Se ştie că substanţele curarizante acţionează la nivelul suprafeţelor polarizate nerv/muşchi iar conform ipotezei acad. E. Macovschi, activitatea interfacială a acestor substanţe ar juca un anumit rol în procesul farmacodinamic. S-a încercat studiul acestei activităţi prin metoda polarografică, pe interfaţa polarizată a electrodului picător de mercur. S-au urmărit din acest punct de vedere substanţe curarizante utilizate în medicină şi 20 săruri cuaternare de amoniu (derivaţi ai benzidinei şi fenilendiaminei) constatîndu-se că factorii care influenţează activitatea farmacodinamică influenţează şi activitatea interfacială. S-a găsit un paralelism între activitatea interfacială a substanţelor curarizante şi activitatea farmacodinamică.

Electrodul picător putînd fi deci folosit ca un model electrochimic pentru procese ce se produc la suprafaţa nervului, s-a urmarit la nivelul interfeţei polarizate interacţiunea dintre sărurile cuaternare de amoniu cu oxigenul, cu cistina, cu acetilcolina şi ionii de potasiu. S a constatat că toţi derivaţii de cetil şi octil piridinium cercetaţi influenţează prin adsorbţie procesul de reducere a apei oxigenate. Efectul cel mai accentuat s-a observat la substanţele ce conţin o grupare amidică în nucleul piridinic. Toate substanţele curarizante cercetate determină creşterea curentului catodic al cistinei. Procesul de reducere a potasiului este influenţat de unele săruri cuaternare de amoniu. Prezenţa acetilcolinei anihilează uneori această influenţă.

N. Luţă-Moldoveanu şi C. Medeşan, *Acţiunea substanţelor curarizante asupra organismului animal.*

După o introducere în care s-a arătat importanţa substanţelor curarizante pentru terapeutica medicală şi chirurgie şi pentru studiul excitabilităţii, s au trecut în revistă teoriile existente în legătură cu mecanismul de acţiune al acestor substanţe asupra organismului animal, apoi s-au expus rezultatele cercetărilor efectuate de autori după sesiunea Institutului de biochimie din 1957, privitoare la acţiunea substanţelor curarizante asupra organismului animal. Ele au avut la bază ipoteza acad. E. Macovschi, după care activitatea substanţelor curarizante depinde de gradul lor de disociaţie hidrolitică şi de raportul hidrofilie/lipofilie. Cercetîndu-se prin şase metode acţiunea biologică a opt derivaţi biscuaternari de amoniu ai fluorenului şi benzal-fluorenului (sintetizaţi de F. Dobrescu), s-a constatat că substanţele prezintă o activitate curarizantă puternică, unele fiind mai active decît *d*-tubocurarina. S-au găsit relaţii strînse între structura chimică şi activitatea curarizantă, rezultatele putînd fi considerate şi ca o dovadă a ipotezei facute de acad. E. Macovschi. S-a subliniat importanţa unora din derivaţii menţionaţi pentru eventuala aplicare în clinică. Cercetările cu privire la activitatea anticolinesterazică a 20 săruri cuaternare de amoniu de tipul bis-onium acetil derivaţi ai *o*-, *m*-, şi *p*-fenilendiaminei şi benzidinei (sintetizate de S. Gheorghe şi H. Schell) au arătat că nu există nici o relaţie între structura chimică şi activitatea anticolinesterazică.

O. Zaharia, V. Frunzeti, L. Botoşăneanu, S. Rădulescu, L. Buzilă şi V. Gheţie, *Metoda capilară şi aplicaţiile ei.*

Pentru introducerea în corpul plantelor a celor mai diferite substanţe în vederea cercetării unor metabolisme, s-a elaborat la Institutul de biochimie metoda capilară.

Referatul prezentat cuprinde lucrările efectuate cu ajutorul acestei metode, precum și perspectivele de lucru ce se deschid în fiziologia și biochimia plantelor. S au cercetat : influența umidității mediului și a pH-ului asupra absorbției soluțiilor ; modul de comportare al diferitelor plante la introducerea de coloranți, microelemente, alcaloizi, hormoni, vegetali și animali, uree, compuși cu azot minerali și organici etc. ; transformările prin care trec unele din substanțele introduse (compuși cu azot). Din cercetările efectuate pînă acum se pot trage următoarele concluzii : 1. metoda capilară poate fi folosită pentru introducerea celor mai diferite substanțe în corpul plantelor ; 2. absorbția soluțiilor variază cu umiditatea aerului ; 3. toxicitatea substanțelor pentru plante variază în funcție de natura lor, precum și de concentrația soluțiilor ; 4. soluțiile introduse se repartizează în special în frunze ; 5. substanțele introduse în plante pot influența biochimismul acestora. În ceea ce privește posibilitățile de aplicare a acestei metode în biochimia și fiziologia plantelor, este probabil că ea ar putea servi la atacarea unor probleme în legătură cu hibridarea vegetativă, combaterea bolilor, protecția contra dăunătorilor, biogeneza diferitelor substanțe ca alcaloizii, glucozizii etc., rezistența la ger și secetă etc.

Acad. E. Macovschi, *Cuvînt de închidere a sesiunii.*

ȘEDINȚE DE COMUNICĂRI LA SECȚIA DE ȘTIINȚE CHIMICE A ACADEMIEI R.P.R.

În ziua de 18 ianuarie 1960 a avut loc la Facultatea de chimie ședința lunară de comunicări, prezidată de acad. E. Macovschi, cu următoarea ordine de zi :

S. Oeriu, E. Lupu și M. A. Dimitriu, *Corelație între structura chimică și activitatea biologică. Noi săruri rodanice de 2', 4'-diaminoazobenzen-4-tioeteri.*

S. Oeriu, G. Costescu, O. Teodorescu și M. A. Dimitriu, *Biochimia creierului. XII. Studiul corelației dintre acidul lactic și acidul piruvic din scoarța cerebrală a șobolanilor în stare de excitație și inhibiție medicamentoasă.*

Textul lucrării este publicat în prezentul număr al revistei.

S. Oeriu, G. Costescu și O. Teodorescu, *Studii asupra biologiei vîrstelor. Nota XIV. Studiul concentrației aminoacizilor dicarboxilici din serul sangvin de șobolan în funcție de vîrstă și sub acțiunea tratamentului cu cisteină.*

Textul lucrării va fi publicat în numărul viitor al revistei.

O. Costăchel, M. Furnică și M. Spiridon, *Influența iradierii locale a șobolanilor asupra conținutului în acizi nucleici din țesuturile neiradiate.*

Textul lucrării este publicat în prezentul număr al revistei.

ȘEDINȚELE CERCULUI DE BIOCHIMIE MEDICALĂ AL SOCIETĂȚII ȘTIINȚELOR MEDICALE ȘI INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R.

În ziua de 27 noiembrie 1959 a avut loc la Casa Universitarilor ședința Cercului de biochimie medicală prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi :

V. Micuşan (S.M.S. 23 August), *Biosinteza colesterolului.*

Referentul a prezentat etapele biosintezei colesterolului pe baza ultimelor rezultate publicate în literatura de specialitate. S-a arătat că sinteza colesterolului porneşte de la unităţi chimice cu număr redus de atomi, ca acidul acetic, acidul aceto-acetic, acidul izovalerianic, acidul 3-hidroxi-3-metilglutaric, acidul mevaldic şi acidul mevalonic. Descoperirea acidului mevalonic a ridicat probleme noi, care au condus final la concluzia că el reprezintă un precursor crucial în biosinteza colesterolului. Cercetările au arătat că acidul mevalonic suferă o serie de transformări: cuplare cu CoA, intervenţia a trei molecule ATP, decarboxilare şi deshidratare. Produsul final izopentenil-pirofosfatul este unitatea capabilă să genereze lanţul izoprenic, structură chimică necesară pentru formarea scualenului în organism. Procesele care au loc pînă aici se petrec în faza anaerobă. Trecerea scualenului spre colesterol se face cu participarea oxigenului molecular. Substanţa intermediară se consideră a fi lanosterolul, din care, prin procese oxidative, se elimină trei grupări metilice, cu formarea colesterolului.

S. M. Idu şi L. Cociumian (Laboratorul de biochimie, Clinica medicală I.M.F., Colţea), *Teste de laborator în hiperlipemie.*

Se arată valoarea raportului beta-alfa globuline în cazul electroforezei libere şi pe hîrtie. Se arată că fixarea lipidelor s-ar datora unei alterări a moleculei proteice, de aceea se trec în revistă determinările de lipide, lipoproteine, fosfolipide, colesterol, făcîndu-se observaţii privind tehnica, valoarea şi posibilităţile de eroare. În concluzie, se arată că în constelaţia de teste pentru diagnosticul hiperlipemiei, electroforeza ocupă locul de frunte, prin lipidogramă. Se mai arată că scopul investigaţiilor expuse este găsirea unei căi de reducere a lipemiei şi colesterolemiei şi că pentru aceasta autorii au recurs la acizii graşi nesaturaţi din uleiul de in.

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE AL INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE ŞI CATEDREI DE BIOCHIMIE DE LA UNIVERSITATEA „C. I. PARHON"

În ziua de 20 noiembrie 1959 a avut loc la Casa Universitarilor şedinţa Cercului de biochimie prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi:

V. Eşanu (I.C.A.R.), *Bazele biochimice ale imunităţii plantelor în lumina celei de-a III-a consfătuiri unionale de imunitate a plantelor (U.R.S.S., 1959).*

Textul lucrării este publicat în prezentul număr al revistei.

L. Vaicum (Institutul de construcţii), *Aplicarea fenomenului de tulburare spontană în unele domenii ale biologiei.*

O parte din lucrare este publicată în prezentul număr al revistei.

L. Buzilă (Institutul de biochimie), *Cuprul şi rezistenţa plantelor la secetă.*

S-a arătat că mărimea rezistenţei la secetă a plantelor sub influenţa cuprului se datoreşte faptului că acesta duce la o creştere cantitativă a proteinelor, substanţe care

contribuie la reținerea apei în formă legată. S-au arătat de asemenea rezultatele unor experiențe efectuate în Institutul de biochimie în acest domeniu.

În continuarea ședinței a avut loc o consfătuire cu cititorii, organizată de Comitetul de redacție al revistei *Studii și cercetări de biochimie*. Din partea cititorilor care au participat la discuții, s-au făcut următoarele propuneri:

1. În afară de lucrările originale, revista să publice și referate de ansamblu din diferite domenii ale biochimiei (V. Micușan, V. Eșanu, A. Ștefan).

2. Pentru a asigura publicarea mai promptă a lucrărilor prezentate redacției în număr din ce în ce mai mare, revista să apară fie cu un număr sporit de pagini, fie de șase ori pe an (F. Horovitz, V. Gheție, D. Moțet-Grigoraș).

3. Să apară în revistă o rubrică în care să se discute eficiența diferitelor tehnici folosite în cercetarea biochimică, precum și o rubrică destinată publicării celor mai importante rezultate obținute prin aplicarea biochimiei în industrie (I. Voicu, V. Eșanu).

Redactorul responsabil adjunct al revistei (H. Slușanschi) arată că publicarea în revistă a unor articole cu caracter general-informativ poate fi utilă și, în consecință, Comitetul de redacție va lua în discuție lucrările de acest gen ce i se vor trimite. Redactorul responsabil (acad. E. Macovschi), încheind consfătuirea, subliniază că mărirea volumului revistei sau apariția ei de șase ori pe an, devenind într-adevăr o necesitate, va fi solicitată Editurii Academiei R.P.R.

REAPARIȚIA REVISTEI FIZIOLOGIA NORMALĂ ȘI PATOLOGICĂ

Începînd din anul 1960 reapare revista *Fiziologia normală și patologică* a Societății științelor medicale, sub conducerea unui colegiu al cărui președinte este acad. prof. dr. Gr. Benetato și la care vor colabora oameni de știință din țara noastră și din străinătate.

În coloanele revistei se vor publica cît mai multe materiale care să intereseze atît cercetătorii cît și marea masă a medicilor practicieni.

Revista își propune să includă în cuprinsul ei următoarele rubrici permanente: referate generale, articole originale, dări de seamă privind congrese, conferințe și consfătuiri din țară și din străinătate, referate din presa străină, cărți noi, noutăți științifice și corespondențe cu cititorii.

Revista va apare de șase ori pe an.

Revista *Studii și cercetări de biochimie* urează deplin succes revistei *Fiziologia normală și patologică*.

PROFESORUL ION VINTILESCU

La 6 martie a.c. se împlinesc șase ani de cînd a încetat din viață profesorul I. Vintilescu, pionier al biochimiei la noi în țară, neobosit cercetător și îndrumător înțelept al tinerilor iubitori de știință.

S-a născut la 6 septembrie 1881, în comuna Padina-Mică (plasa Motru-de-Jos – Dumbrava) din județul Mehedinți, al cincilea din cei unsprezece copii ai lui Dimitrie și Ioanei Vintilescu. A urmat cursurile școlii elementare și secundare la Turnu Severin. După absolvirea liceului, se înscrie la Facultatea de farmacie iar ca student dă examenul de intern în farmacie în 1900. În 1902 obține titlul de licențiat în farmacie al Universității din București.

Tot în 1902 este numit chimist legist la Institutul medico-legal de sub conducerea prof. Mina Minovici, ocupînd în același an și funcția de chimist auxiliar al Tribunalului Ilfov, în care lucrează alături de prof. Ștefan Minovici, directorul laboratorului de chimie analitică al Universității din București.

În 1904 este trimis la Paris pentru studii de specializare în chimie biologică, disciplină în care la noi nu existau în vremea aceea specialiști.

În capitala Franței urmează cursurile Facultății de științe dar în același timp continuă studiile farmaceutice începute în țară.

În 1906, cu lucrarea *Cercetări asupra glucozizilor din unele plante de oleacee*, premiată cu medalia de aur a Societății de farmacie din Paris, I. Vintilescu a fost primul romîn care a obținut, în străinătate, titlul de doctor în farmacie.

În 1908 obține titlul de licențiat al Facultății de științe iar în 1910 titlul de „doctor în științe naturale", cu lucrarea *Cercetări biochimice asupra unor zaharuri și glucozizi*, la Facultatea de științe din Paris.

După primul an de studii la Paris, primit în laboratorul părintelui enzimologiei franceze, profesorul Emile Bourquelot, Vintilescu se dedică enzimologiei. Cei cinci ani consecutivi de lucru alături de maestru au contribuit la formarea temeinicelor concepții științifice ale elevului.

În 1912, cînd pentru lucrările sale valoroase Vintilescu a fost ales membru al Societății de farmacie și al Societății de Chimie din Franța, E. Bourquelot scria, într-o frumoasă apreciere : „Dl. Vintilescu a descoperit mai mulți glucozizi noi și a stabilit prezența unor glucozizi zaharuri și fermenți deja cunoscuți în specii vegetale unde pînă atunci nimeni nu reușise să-semnaleze".

După terminarea studiilor la Paris, I. Vintilescu s-a oprit cîteva luni la Berlin, unde a lucrat în laboratorul cunoscutului profesor Emil Abderhalden.

Reîntors în țară, prof. Vintilescu a fost numit chimist legist în locul prof. Ștefan Minovici, care demisionase și totodată farmacist șef al Așezămintelor Brîncovenești din capitală. Această din urmă funcție a îndeplinit-o pînă în 1941 cînd a fost pensionat.

În 1913 a fost numit profesor titular de farmacie galenică la Facultatea de medicină din Iași iar în 1916, după moartea prof. Poltzer, a fost transferat ca succesor la catedra de analiza alimentelor și băuturilor de la Facultatea de medicină din București. În timpul primului război mondial este în fruntea serviciului farmaceutic al Crucii Roșii romîne.

În 1921 ocupă din nou postul de chimist legist la Institutul medico-legal din București.

În 1924 este transferat de la Facultatea de medicină la Facultatea de farmacie, pe care o conduce în calitate de decan între anii 1928—1934 și 1940—1944. În 1947 iese la pensie la limita de vîrstă.

După ieșirea la pensie a continuat să lucreze în cadrul Centralei industriale chimico-farmaceutice, pînă aproape de ziua cînd s-a stins din viață.

Activitatea publicistică cuprinde cîteva lucrări în care autorul a evocat figurile înaintașilor săi. Astfel, în 1924 el a publicat un articol necrologic despre Emile Bourquelot, în 1932, un articol omagial închinat lui Ștefan Minovici (cu prilejul primirii titlului de Doctor honoris causa) iar în 1941 un articol despre *Activitatea lui Carol Davilla în domeniul farmaciei*.

Organizarea serviciilor farmaceutice ale Așezămintelor Brîncovenești și Crucii Roșii, apoi marea operă de concentrare a învățămîntului farmaceutic la București în 1934, sînt exemple de interes purtat nevoilor colectivității și dovada muncii depuse pentru împlinirea lor.

A redactat ediția a IV-a a Farmacopeii romîne, a colaborat la redactarea Farmacopeii internaționale, publicată la Bruxelles în 1925 și a colaborat la redactarea ediției a V-a a Farmacopeii romîne.

Cercetarea de laborator a fost însă principala sa preocupare iar în domeniul reacțiilor enzimatice privind glicozizii, numele prof. Vintilescu, citat în marile tratate de Abderhalden, Czapek, Wehmer, Boemer și Tschirch, este legat de progrese importante. Numele său este întîlnit de altfel și cînd se studiază alte capitole ale biochimiei. Spre exemplu : rîncezirea grăsimilor, sinteza glicozizilor, cinetica enzimatică.

I. Vintilescu socotea că chimia alimentară este strîns legată de biochimie, ceea ce rezultă și din titulatura catedrei sale „chimie biologică și alimentară", nume ce i-a dat în 1916, cînd a ocupat-o.

În lucrările sale de chimie alimentară, I. Vintilescu, ajutat de colaboratori, a întocmit tabele de compoziția alimentelor, a cercetat compoziția cărnii de pește, a orezului cultivat în Romînia și a altor cîteva alimente, a făcut apoi cercetări comparative asupra conținutului în iod al produselor alimentare consumate în regiunile de munte cu gușă endemică și al produselor consumate în celelalte regiuni ale țării.

I. Vintilescu a fost și creator de școală. A știut să adune în jurul său și să încurajeze elementele bine dotate și muncitoare și să ridice astfel cadre bine pregătite. Este suficient să se știe că trei dintre colaboratorii săi au ajuns profesori universitari deosebit de apreciați „Biochimia este umană la Facultatea de medicină, comparată la Facultatea de științe și aplicată la Facultatea de farmacie" spunea prof. I. Vintilescu la începerea cursurilor. Consecvent cu acest fel de a vedea, a fost preocupat în cercetările sale și de eventualele aplicații practice. În acest domeniu, cea mai importantă realizare a să pe plan național a fost punerea la punct a fabricării catgutului la noi în țară, operă care trăiește și azi, dezvoltată și perfecționată în anii puterii populare.

Chiar după ieșirea la pensie, I. Vintilescu nu s-a resemnat să rămînă inactiv. În cadrul Institutului chimico-farmaceutic și-a continuat cercetările în domeniul biochimiei. *Făina de carote în dietetica infantilă* și lucrarea *Despre digitoxid, produs cardiotonic, reprezentînd totalitatea glucozizilor din Digitala purpureea*, publicate în 1949, sînt lucrări efectuate după pensionare.

Alte cercetări din această epocă au rămas neterminate. În ultimul timp al vieții studia extragerea și efectul terapeutic al pectinelor.

La sfîrșitul iernii 1953-54 boala îl slăbise mult iar în ziua de 6 martie 1954, foștii elevi, colaboratorii și prietenii au aflat cu durere că profesorul Ion Vintilescu încetase din viață.

Aducem mulțumirile noastre pentru materialul documentar pus la dispoziție de Romeo Vilara.

S. M. Idu
Laboratorul de biochimie, Clinica medicală I.M.F., Colțea

LISTA LUCRĂRILOR DE BIOCHIMIE PUBLICATE DE PROFESORUL ION VINTILESCU

1. *Istoricul medicamentelor formice. Considerațiuni asupra formiaților.* Spitalul, **XXV**, *12*, 334 (1905).
2. *Considerațiuni asupra acțiunii acidului formic în organism.* Spitalul, **XXV**, *14*, 404 (1905).
3. *Despre formațiunea principiilor activi în plante.* Bul. farmac. și chim. al Asoc. G-rale a Farmaciștilor din Romînia, **VII**, *3*, 119 (1905).
4. *Recherches et dosages de la Syringine dans les différents organes des Lilas et des Troènes.* J. Pharm. Chim., **XXIV**, seria 6, 145 (1906).
5. *Recherches sur les glucosides des Jasminées. Syringine et Jasmiflorine.* J. Pharm. Chim., **XXIV**, seria 6, 529 (1906).
6. *Recherches sur les glucosides de quelques plantes de la famille des Oléacées.* Thèse de doctorat en pharmacie, Paris, 1906.
7. *Sur la présence de la Mannite dans les Jasminées.* J. Pharm. Chim., **XXV**, seria 6, 373 (1907).

8. *Sur l'Oleuropéine, nouveau principe de nature glucosidique retiré de l'Olivier (Olea europæa)* (în colaborare cu E. Bourquelot), J. Pharm. chim., **XXVIII**, seria 6, 303 (1908).
9. *Sur la présence du Stachyose dans le Jasmin blanc (Jasminum officinale 4)*. J. Pharm. Chim., **XXIX**, seria 6, 336, (1909).
10. *Etude de l'action des ferments sur le Stachyose*. J. Pharm. Chim., **XXX**, seria 6, 167 (1909).
11. *Recherches biochimiques sur quelques sucres et glucosides*. Thèse de doctorat ès sciences, Paris, 1910.
12. *Sur l'existence de principes glucosidiques et sur les variations de leurs proportions dans deux espèces du genre Veronica L (Scrofularinées)*. J. Pharm. Chim., **I**, seria 7, 162 (1910).
13. *Sur les variations des proportions d'Oleuropéine dans l'Olive, depuis son apparition jusqu'à sa maturité* (în colaborare cu E. Bourquelot), J. Pharm. Chim., **I**, seria 7, 292 (1910).
14. *Oxidarea arsenobenzolului cu ajutorul diastazelor oxidante și a percloruri de fier*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom., **XIV**, *2*, 51 (1912).
15. *Farmacologia salvarsanului*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom., **XIV**, *2*, 55 (1912).
16. *Reacțiunile acetanilidei indicate în cîteva Farmacopee* (în colaborare cu G. Thoiss), Revista Farmaciei, **XLV**, *3*, (1913).
17. *Sur le rôle des glucosides chez les végétaux*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom, **XVII**, *3*, 128 (1915).
18. *Réaction biochimique des graisses rances* (în colaborare cu A. Popescu), Bull. de la sect. scient. de l'Académie Roumaine, **IV**, *3*, 151 (1915).
19. *Contribution au chimisme de la putréfaction. Composition de l'adipocire d'un cadavre exhumé après cinq ans*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom., **XV**, *1*, 3 (1913).
20. *Remarques sur quelques méthodes de destruction des matières organiques pour la recherche des poisons minéraux. Choix d'une méthode générale d'analyse*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom., **XVII**, *3*, 99 (1915).
21. *Sur les toxines du pain moisi*. Bul. Soc. Chim. aplic. Rom., **XVII**, 9, 271 (1915).
22. *Sur la recherche du sulfocyanure d'ammonium dans un cas d'empoisonnement* (în colaborare cu A. Popescu), Rev. șt. med., **IX**, *9*, 831 (1915).
23. *Réaction biochimique de la farine de Maïs* (în colaborare cu M. Haiman), Bul. Soc. Chim. Rom., **IV**, *1—2*, 17 (1922).
24. *Etude de l'action de l'Iode sur quelques hydrates de carbone* (în colaborare cu D. Faltis), Bul. Soc. Chim. Rom., **V**, *3—4*, 59 (1923).
25. *Recherches sur les cigarettes empoisonnées* (în colaborare cu V. Șteflea), Bul. Soc. Chim. Rom., **VI**, *1*, 46 (1924).
26. *Sur la synthèse biochimique du β-glucoside du glycol butylénique (1,3)* (în colaborare cu N. Ioanid), Bul. Soc. Chim. Rom., **XIV**, *1—2*, 5 (1933).
27. *Recherches chimiques comparative sur les ovaires de quelques espèces animales et sur les poudres d'ovaires du commerce* (în colaborare cu I. Bibescu), J. Pharm. Chim., **XVI**, seria 8, 369 (1932).
28. *Sur les glucides de quelques espèces de plantes du genre Vinca et sur les variations de leurs proportions au cours de la végétation. Les Vincosides* (în colaborare cu N. Ioanid), Bull. Soc. Chim. Biol., **XV**, *1*, 63 (1933).
29. *Démonstration directe de la spécificité de la bêta-glucosidase dans la synthèse des bêta-glucosides* (în colaborare cu C. N. Ionescu și N. Duscian), Bul. Soc. Chim. Rom., **XVI**, *3—4*, 145 (1934).
30. *Synthèses biochimiques de quelques bêta-glucosides* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Kizyk), Bul. Soc. Chim. Rom., **XVI**, *3—4*, 151 (1934).
31. *Sur la synthèse biochimique des β-cyclopentyl et β-cyclohexyl glucosides* (în colaborare cu C. N. Ionescu), J. Pharm. Chim., **XXI**, seria 8, 241 (1935).

32. *La synthèse biochimique de bêta glucosides dérivés des alcools non miscibles à l'eau* (în colaborare cu C. N. Ionescu și M. Solomon), Bul. Soc. Chim. Rom., **XVII**, *3—4*, 267 (1935).
33. *L'action synthétisante de la bêta-glucosidase sur le glucose* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Kizyk) Bul. Soc. Chim. Rom., **XVII**, *3—4*, 283 (1935).
34. *Enzymatische Synthesen einiger alpha-Glucosiden* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Kizyk), Bul. Soc. Chim. Rom., **XVII**, *1—2*, 131 (1935).
35. *Application de la loi de l'action des masses à la synthèse des bêta-glucosides* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Kizyk), Bul. Soc. Chim. Rom., **XVII** *1—2*, 137 (1935).
36. *Catgutul românesc.* Rev. sanit. militară, **XXXV**, *8*, 884 (1936).
37. *Studiul amilazei urinare* (în colaborare cu C. N. Ionescu și V. Mîndroiu), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **II**, *1*, 12 (1937).
38. *Cinetica hidrolizelor catalizate cu esterază hepatică* (în colaborare cu C. N. Ionescu și I. Coțani), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **II**, *3—4*, 43 (1937).
39. *Syntèse biochimique des bêta-glucosides supérieurs* (în colaborare cu C. N. Ionescu), Bul. Soc. Chim. Rom., **XX**, *1—4*, 115 (1938).
40. *Influența cîtorva medicamente asupra amilazei* (în colaborare cu C. N. Ionescu și V. Mîndroiu), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **3**, *2*, 176 (1938).
41. *Dozarea amilazei în sînge* (în colaborare cu C. N. Ionescu și V. Mîndroiu), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **III**, *2*, 181 (1938).
42. *Factorii care influențează calitățile fizice ale catgutului* (în colaborare cu C. N. Ionescu și T. Trandafilov), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **III**, *4*, 434 (1938).
43. *Dosage de l'amylase dans l'urine* (în colaborare cu C. N. Ionescu și V. Mîndroiu), Bull. Soc. Chim. Biol. **XX**, *7—8*, 953 (1938).
44. *Cinetica amilazei urinare* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Opari), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **IV**, *1*, 90 (1939).
45. *Tabele cu compoziția alimentelor.* Rev. sanit. militară, **XXXIX**, *3*, 137 (1940).
46. *La composition chimique de la chair de poisson* (în colaborare cu N. Stanciu și A. Opari), Bull. de la sect. scient. de l'Academie Roumaine, **XXII**, *10*, 528 (1940).
47. *La composition du riz cultivé en Roumanie* (în colaborare cu C. N. Ionescu, N. Stanciu și A. Anghel), Bull. de la sect. scient. de l'Académie Roumaine, **XXII**, *10*, 441 (1940).
48. *Variația amilazei în urină cu diferiți factori fiziologici* (în colaborare cu C. N. Ionescu și A. Opari), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **VI**, *1*, 31 (1941).
49. *Determinarea iodului în alimentele din țară, recoltate în regiunile de munte (gușați), de șes și de mare* (în colaborare cu A. Opari și E. Savopol), Revista Studii, *3*, 41 (1948).
50. *Determinarea compoziției chimice a principalelor alimente din țară* (în colaborare cu N. Stanciu, A. Opari și A. Anghel), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **VIII—XII**, 216 (1943—1947).
51. *Cercetări asupra fitinei din comerț și sinonimelor sale* (în colaborare cu A. Opari), Bul. Soc. de Științe Farmaceutice, **VIII—XII**, 24 (1943—1947).
52. *Un nou regim pentru digitală și pentru preparatele farmaceutice din digitală* (în colaborare cu I. C. Pop), Inst. art. graf. CGM, București, 1949, 14.
53. *Făina de carote în dietetica infantilă* (în colaborare cu I. Polovrăgeanu și El. Polovrăgeanu), Rev. științelor medicale, **I**, seria 2, *1*, 51 (1949).
54. *Despre digitoxid, produs cardiotonic, reprezentînd totalitatea glucozizilor din Digitala purpureea* (în colaborare cu C. N. Ionescu, I. Polovrăgeanu și I. C. Pop), Rev. științelor medicale, **I**, seria 2, *5*, 371 (1949).

INDICAȚII PENTRU AUTORI

În revista *Studii și cercetări de biochimie* se publică lucrări originale din orice domeniu al biochimiei. Lucrările trimise spre publicare nu trebuie să mai fi apărut în altă revistă. O dată acceptate, ele nu mai pot fi publicate în altă parte, fără consimțămîntul redacției.

Lucrările, redactate cît mai concis, se trimit redacției în trei exemplare dactilografiate (primul exemplar de la mașină și două copii), scrise pe coli normale, pe o singură față a colii, cu 31 rînduri pe o pagină și maximum 65 semne pe rînd. Înainte de trimitere, ele trebuie să fie revizuite cu grijă de autori, corectîndu-se toate erorile de dactilografiere. Se vor verifica îndeosebi : ortografia numelor proprii, corectitudinea citatelor, indicațiile bibliografice și datele numerice din text și din tabele.

Lucrările vor purta un titlu adecvat, numele autorilor și, pe ultima pagină a textului propriu-zis, numele instituției sau laboratorului unde s-au efectuat cercetările. Este recomandabil ca lucrările să fie împărțite în următoarele secțiuni : *a*) o parte introductivă, fără titlu ; *b*) metoda de lucru ; *c*) rezultate și discuții *d*) concluzii ; *e*) bibliografie ; *f*) rezumat. Titlurile secțiunilor *b*—*d* vor fi însă omise în notele scurte, de 1—4 pagini dactilografiate.

În partea introductivă se vor preciza scopul lucrării și relațiile ei cu alte lucrări din același domeniu, alese dintre cele mai recente, fără a se face o întinsă trecere în revistă a literaturii.

Partea experimentală, deși concisă, trebuie expusă totuși atît de explicit încît să permită repetarea exactă a cercetărilor. Dacă s-au folosit metode publicate anterior, fără modificări esențiale, ele nu vor mai fi descrise, indicîndu-se numai bibliografia corespunzătoare.

Expunerea rezultatelor va fi însoțită, cînd este necesar, de tabele *sau* figuri. Nu se admit tabele și figuri care ilustrează aceleași rezultate.

Tabelele trebuie dactilografiate pe coli separate, iar locul lor aproximativ se va indica în textul lucrării. Ele se vor alcătui astfel încît pentru înțelegerea lor să nu fie necesară referirea la text. Fiecare tabelă va avea un titlu corespunzător, iar fiecare coloană va avea un cap de coloană, în care se arată limpede semnificația valorilor respective. Unitățile în care se exprimă rezultatele (ex. g/100 ml) se arată fie numai în titlu sau într-un subtitlu (care va putea cuprinde la nevoie și alte indicații), dacă sînt comune pentru întreaga tabelă, fie numai în capul coloanelor respective, dacă sînt diferite, fără a le repeta la fiecare rînd. Ele se vor scrie cu respectarea normelor adoptate în literatura științifică internațională (de ex. g și nu gr, l și nu ltr etc., totdeauna fără punct). Dacă pentru unele coloane sau date ale tabelelor sînt necesare observații speciale, acestea se vor consemna, cu trimitere, imediat sub tabele.

Se va evita prezentarea de date numeroase, esențialmente similare. În locul unor șiruri de date individuale de acest fel se va indica în tabele numărul datelor individuale, media lor și deviația standard a distribuției (eventual și valorile limită ale distribuției). Dacă în text se afirmă că diferența dintre două valori medii înscrise în tabele este semnificativă, fără ca acest fapt să apară în mod evident, afirmația trebuie sprijinită neapărat pe textul de semnificație corespunzător.

Figurile se trimit într-un singur exemplar, pe foi de calc, în tuș. Literele și cifrele din figuri trebuie să fie îndeajuns de mari pentru ca să rămînă lizibile și după reducerea figurilor pînă la dimensiunile unui sfert sau unei jumătăți de pagină tipărită. Numărul figurilor va fi cît mai mic cu putință și ele vor fi alcătuite astfel ca să se evite risipa de spațiu : curbe ce pot fi înscrise într-un grafic comun nu se vor prezenta ca figuri separate, iar scările graficelor vor fi astfel alese încît figurile să nu fie prea alungite.

Fotografiile ce urmează a fi reproduse trebuie să fie perfect clare, făcute pe hîrtie albă, lucioasă.

Pe fiecare figură și fotografie se va scrie citeț, pe margine sau pe verso, numele autorilor și numărul figurii, adăugîndu-se la nevoie și indicația *sus* sau *jos*.

Legendele explicative ale figurilor vor fi dactilografiate pe o foaie separată și redactate concis, clar și complet, astfel ca să nu fie necesară referirea la text.

Formulele chimice sau matematice se vor scrie în rîndurile obișnuite ale textului numai dacă sînt simple și se pot tipări pe un singur rînd tipografic. În cazul formulelor structurale, expresiilor matematice complicate, acestea se vor scrie între două rînduri ale textului, centrîndu-le. În acest din urmă fel se scriu și ecuațiile chimice. Nu se vor folosi formule în titlul lucrării, unde se admit numai simbolurile necesare pentru precizarea structurii compușilor marcați cu izotopi (ex. glicocol-2-C^{14}).

Discuția rezultatelor și concluziile trebuie să se refere numai la datele prezentate în lucrare.

Bibliografia se scrie pe foi separate, în ordinea alfabetică a numelui autorilor. Numai dacă lucrările citate sînt puțin numeroase, ele vor putea fi înscrise și în ordinea citării lor în text. În primul caz inițiala pronumelui se va scrie după numele autorului respectiv, în cel de-al doilea înaintea lui. Pentru articolele din reviste se indică : numele autorului, titlul articolului în limba respectivă, însoțit între paranteze de traducerea lui în cazul limbilor mai puțin cunoscute, titlul revistei în prescurtările de uz internațional (v. Referativnîi Jurnal, Chemisches Zentralblatt, Chemical Abstracts), tomul (t.) sau volumul (vol.), numărul (nr.), pagina (p.), anul apariției. De ex. : UNDERHAYE. E., *The hydrolysis of indoxyl esters by esterases of human blood*, Biochem. J., vol. 66, nr. *3*, p. 383 (1957). Pentru cărți se indică : numele autorului, titlul cărții, editura, orașul unde a fost publicată, anul apariției, tomul sau volumul, pagina la care se trimite. În bibliografie nu vor figura decît lucrările pentru care există trimiteri în textul articolului.

Lucrarea trebuie să fie însoțită de un scurt rezumat pe foaie separată care urmează să fie tradus în limbi străine, prin grija editurii. El va cuprinde titlul lucrării și o foarte concisă prezentare a rezultatelor și concluziilor definitive ale lucrării. Detalii de metodă nu sînt necesare de obicei.

Pentru lucrarea apărută, autorul sau autorii primesc gratuit 50 de extrase.

MŰSZAKI KÖNYVTÁR SZEGED 1882

LUCRĂRI APĂRUTE ÎN EDITURA ACADEMIEI R.P.R.

I. REICHEL, **Chimia şi tehnologia coloranţilor azoici**, 354 p., 15,55 lei.

ALEXANDRU LUPU, **Contribuţii în domeniul compuşilor macromoleculari folosiţi în industria fibrelor chimice**, 96 p., 7 lei.

O. F. SOLOMON, **Despre teoria proceselor de polimerizare şi polimerizarea acetilenei**, 235 p., 10,75 lei.

Din

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

au apărut:

anul I, 1958, 4 n-re (a 5 lei);
anul II, 1959, 4 n-re (a 5 lei);
anul III, 1960, primul nr. (a 5 lei).

Numerele se pot comanda, direct sau prin poştă, prin

LIBRĂRIA ACADEMIEI R. P. R.

Bucureşti, Calea Victoriei nr. 27.

Numerele curente se găsesc de vînzare la orice librărie ştiinţifică din ţară.

Abonamentele se fac la oficiile poştale, prin factorii poştali şi difuzorii voluntari din întreprinderi şi instituţii.

Pentru străinătate, cererile de numere izolate sau de abonamente se fac prin întreprinderea de stat pentru comerţ exterior „Cartimex" I.S.C.E., str. Aristide Briand nr. 14, sau Căsuţa poştală 134—135, Bucureşti.

Lei 5 —

I. P. 2, c. 1359

F 1330

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

4
ANUL III
1960

studii şi cercetări de biochimie

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

ORSZÁGOS-MŰSZAKI-KÖNYVTÁR-OSZTÁLY
1883

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

LUCRĂRILE CONSFĂTUIRII ÎN PROBLEMA SUBSTANŢELOR CURARIZANTE
Bucureşti, 9 iulie 1960

4

ANUL III

1960

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI, *redactor responsabil*; ACADEMICIAN R. VLĂDESCU; D. ISĂCESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; M. MEZINCESCU; H. SLUȘANSCHI, *redactor adjunct*; I. VASILESCU; V. ALEXANDRESCU, *secretar tehnic de redacție*.

REVISTA STUDII ȘI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

APARE DE 4 ORI PE AN

Redacția : BUCUREȘTI, str. Popovici nr. 20

Telefon 18.43.55—17.79.63

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul III, nr. 4 1960

SUMAR

Pag.

*** Din partea redacţiei 355

E. MACOVSCHI, Cuvînt de deschidere 357

TRAIAN RĂDULESCU, Substanţe curarizante de sinteză. Unele relaţii dintre structura şi activitatea lor 361

I. COTĂESCU, Mecanismul metabolic al acţiunii curarizante 373

GH. NICULESCU, Farmacodinamia curarei şi a substanţelor curarizante. . . 385

V. VOICULESCU, J. UNGER şi N. MISON-CRIGHEL, Utilizarea substanţelor relaxante în neurologie 395

G. LITARCZEK, S. HALEVY, R. SIMIONESCU şi I. CRISTEA, Utilizarea relaxantelor în anesteziologie 401

P. SPACU şi ELENA ANTONESCU, Studiu asupra dozării flaxedilului. . . . 409

C. MEDEŞAN şi M. STOICA, Acţiunea unor săruri cuaternare de amoniu derivate de la 2,7-diaminofluoren asupra organismului animal 417

I. KIŢULESCU şi V. BĂLUŢĂ, Influenţa tubocurarinei asupra activităţii acetilcolinesterazei şi a sintezei acetilfosfatului în eritrocite. 429

A. TEITEL şi A. POPA, Cercetări cantitative asupra acţiunii d-tubocurarinei 435

A. TEITEL şi D. DOBRESCU, Acţiunea potasiului asupra cronaxiei şi influenţarea ei prin procaină 441

M. BALŞ, Substanţe curarizante de sinteză în tratamentul tetanosului 447

Concluziile Consfătuirii în problema substanţelor curarizante 451

RECENZII 453

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE
INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome III, nº 4 1960

SOMMAIRE

	Page
*** Avant-propos de la rédaction	355
E. MACOVSCHI, Discours d'ouverture	357
TRAIAN RĂDULESCU, Substances curarisantes de synthèse. Certaines corrélations entre leur structure et leur activité	361
I. COTĂESCU, Le mécanisme métabolique de l'action curarisante	373
GH. NICULESCU, La pharmacodynamie du curare et des substances curarisantes	385
V. VOICULESCU, J. UNGER et N. MISON-CRIGHEL, Utilisation des substances relaxantes en neurologie	395
G. LITARCZEK, S. HALEVY, R. SIMIONESCU et I. CRISTEA, Utilisation des substances relaxantes en anesthésiologie	401
P. SPACU et ELENA ANTONESCU, Études sur le dosage du flaxédyle	409
C. MEDEŞAN et M. STOICA, Action, sur l'organisme animal, de certains sels quaternaires d'ammonium dérivés du diaminofluorène-2,7	417
I. KIŢULESCU et V. BALUŢĂ, Influence de la tubocurarine sur l'activité de l'acétylcholinestérase et sur la synthèse de l'acétylphosphate dans les érythrocytes	429
A. TEITEL et A. POPA, Recherches quantitatives sur l'action de la d-tubocurarine	435
A. TEITEL et D. DOBRESCU, Action du potassium sur la chronaxie et sa modification par la procaïne	441
M. BALŞ, Substances curarisantes de synthèse dans le traitement du tétanos	447
Conclusions de la Conférence sur les substances curarisantes	451
COMPTES RENDUS	453

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ

Том III, № 4 1960

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

От редакции 355
Е. МАКОВСКИЙ, Вступительное слово 357
ТРАЯН РЭДУЛЕСКУ, Синтетические курареподобные вещества. Некоторые отношения между их построением и активностью 361
И. КОТЭЕСКУ, Метаболический механизм курареподобного действия . 373
Г. НИКУЛЕСКУ, Фармакодинамика кураре и курареподобные вещества 385
В. ВОЙКУЛЕСКУ, Ю. УНГЕР и Н. МИСОН-КРИГЕЛЬ, Использование релаксантов в неврологии 395
Г. ЛИТАРЧЕК, С. ХАЛЕВИ, Р. СИМИОНЕСКУ и И. КРИСТЯ, Использование расслабляющих веществ в анестезиологии 401
П. СПАКУ и ЕЛЕНА АНТОНЕСКУ, Исследования по определению флакседила 409
К. МЕДЕШАН и М. СТОЙКА, Действие некоторых четвертичных солей аммония производных 2,7-диаминафлуорена на животный организм 417
И. КИЦУЛЕСКУ и В. БЭЛУЦЭ, Влияние тубокурарина на действие ацетилхолинэстеразы и на синтез ацетилфосфата в эритроцитах 429
А. ТЕЙТЕЛЬ и А. ПОПА, Количественные исследования действия *d*-тубокурарина 435
А. ТЕЙТЕЛЬ и Д. ДОБРЕСКУ, Действие калия на хронаксию и влияние, оказываемое на нее прокаином 441
М. БАЛШ, Синтетические курареподобные вещества при лечении столбняка 447
Выводы совещания по вопросу курареподобных веществ 451

РЕЦЕНЗИИ 453

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

CONSFĂTUIREA ÎN PROBLEMA SUBSTANȚELOR CURARIZANTE

Consfătuirea în problema substanțelor curarizante a fost organizată de Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. în colaborare cu Secția de fiziologie normală și patologică, biochimie și farmacologie a Societății științelor medicale și s-a ținut în ziua de 9 iulie a. c. în sala teatrului „C. Nottara". Au participat academicieni, profesori și conferențiari universitari, cercetători de la institutele de cercetări ale Academiei R.P.R. și de la institute departamentale, precum și cadre medicale.

Consfătuirea a început cu un „Cuvînt de deschidere" ținut de acad. E. Macovschi, care a arătat actualitatea pe plan mondial a problemei substanțelor curarizante ce au aplicații din ce în ce mai numeroase și mai importante în anesteziologie, chirurgie, medicină internă și în alte domenii ale medicinii.

S-au prezentat apoi o serie de referate, de către Tr. Rădulescu, prof. dr. I. Cotăescu, prof. dr. G. Niculescu, dr. V. Voiculescu și dr. G. Litărczek. A urmat prezentarea lucrărilor originale de către E. Antonescu, C. Medeșan, I. Kițulescu, dr. A. Popa, dr. D. Dobrescu și prof. dr. M. Balș.

La discuții au participat prof. dr. I. Nițescu, prof. dr. I. Cotăescu, prof. G. Niculescu și dr. M. Cireșanu.

În cuvîntul de închidere, acad. E. Macovschi a scos în evidență concluziile care s-au desprins din referate, lucrări și discuții.

În sfîrșit, a fost vizionat filmul „Substanțele curarizante și aplicațiile lor", pus la dispoziția Consfătuirii de către prof. dr. S. Longhin.

CUVÎNT DE DESCHIDERE

DE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI

Lucrările și hotărîrile celui de al III-lea Congres al Partidului Muncitoresc Romîn oglindesc grija pe care partidul o poartă pentru dezvoltarea științei în Republica Populară Romînă și trasează sarcinile care revin științei noastre în următorii șase ani.

În privința științelor medicale, ca și a celor biologice, se precizează nevoia intensificării cercetărilor mai ales în domeniile cu aplicații în practică, precum și în cele fundamentale, în care primul loc îl ocupă fiziologia și biochimia.

Faptul că știința este chemată să-și dea contribuția ei la desăvîrșirea construirii socialismului în Republica noastră Populară exercită un efect mobilizator asupra tuturor celor care lucrează în domeniul științei și ne face să pornim cu un nou elan la munca creatoare atît de necesară țării.

*

Printre problemele de actualitate pe plan mondial, importante pentru medicină, biologie și biochimie, figurează și problema substanțelor curarizante.

Ca dovadă poate servi și faptul că în ultimii ani au fost organizate două simpozioane internaționale dedicate special acestor substanțe : unul sub auspiciile UNESCO la Rio de Janeiro, iar altul la Veneția, la care au participat 30 de țări, dintre care Uniunea Sovietică a trimis o delegație de 12 specialiști, în frunte cu profesorii S. Anicikov din Leningrad și M. Krakovski din Moscova, S.U.A. 26 delegați, Anglia 21, Franța 12, Germania 24 etc.

În afară de aceasta, la multe congrese și simpozioane internaționale de fiziologie și farmacologie, precum și de anesteziologie, chirurgie, bolile sistemului neuro-muscular, neurologie etc., s-au prezentat și se prezintă referate și comunicări din domeniul substanțelor curarizante. De asemenea, este bine să amintesc faptul că premiul Nobel pentru cercetări medicale

pe anul 1957 a fost acordat savantului Daniel Bovet, pentru cercetările sale din domeniul substanțelor curarizante. De altfel, în momentul de față, în toate țările lumii se fac cercetări relativ la substanțele curarizante și, spre ilustrarea acestei afirmații, voi menționa că în Uniunea Sovietică de problema acestor substanțe se preocupă Institutul de medicină experimentală din Leningrad, Institutul de chimie organică din Erevan și altele.

Atenția din ce în ce mai mare care se acordă pretutindeni substanțelor curarizante are două justificări principale :

I. Substanțele curarizante, blocînd trecerea influxului nervos în mușchi, realizează relaxarea musculaturii, ceea ce prezintă o importanță deosebită pentru medicină, găsind aplicații din ce în ce mai numeroase și mai importante în anesteziologie, chirurgie, neurologie, medicină internă etc. Printre substanțele utilizate azi curent în medicină, putem menționa : d-tubocurarina, succinilcolina, flaxedilul, decametoniul etc. Cît de importante au devenit astfel de substanțe, o dovedește exemplul următor : astăzi, fără substanțe curarizante nu se poate concepe aproape nici o tehnică de narcoză.

II. Substanțele curarizante provocînd modificări însemnate ale excitabilității musculare, influențează întreaga comportare a sistemului neuromuscular, ceea ce deschide căi noi spre cercetarea bazelor biochimice ale excitabilității musculare în special și ale excitabilității materiei vii în general. Problema bazelor biochimice ale excitabilității materiei vii reprezintă una dintre problemele fundamentale ale biologiei, iar importanța ei capitală pentru medicină nu poate scăpa nimănui.

Unii, care nu cunosc în fond problema substanțelor curarizante, ar pune întrebarea : „Din moment ce dispunem azi de cîteva substanțe curarizante naturale și de sinteză, intrate — cu bune rezultate — în practica medicală, mai avem nevoie de noi cercetări în acest domeniu?"

Răspunsul e simplu : deși anumite substanțe curarizante sînt aplicate în medicină cu rezultate bune și chiar foarte bune, totuși, fiecare din ele are și însușiri negative. Mecanismul lor de acțiune asupra organismului nu este elucidat. Încă nu cunoaștem în suficientă măsură legătura dintre constituția lor chimică și acțiunea lor farmacodinamică. Ne lipsesc multe date cu privire la repartiția lor în organism și la modificările biochimice pe care le provoacă în diferite organe și țesuturi etc. Toate aceste cunoștințe sînt însă absolut necesare pentru a se ajunge la sinteza, la obținerea unor substanțe curarizante să le zicem „ideale", care să permită medicului aplicarea lor „optimă" în fiecare caz în parte. În toate aceste direcții mai este mult, foarte mult de făcut !

Se înțelege că, dată fiind importanța substanțelor curarizante, au început și în țara noastră o serie de cercetări în domeniul acestor substanțe, urmărindu-se sinteza lor, comportarea lor fizico-chimică și biochimică în organism, acțiunea farmacodinamică etc. Totodată, aceste substanțe au început să fie folosite pe scară tot mai largă în medicina noastră, acumulîndu-se pînă acum o bogată experiență. Voi menționa numai pe scurt că la Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. au fost puse la punct metode comode pentru sinteza succinilcolinei și a flaxedilului, două substanțe curarizante care găsesc o largă întrebuințare în

medicină ca valoroși adjuvanți în anestezie; au fost sintetizate noi categorii de substanțe cu acțiune curarizantă, pe bază de alcaloizi, fluoren, stilbeni etc.; au fost stabilite anumite legături între activitatea curarizantă și anumite proprietăți fizico-chimice ale substanțelor respective, ca de exemplu disociația electrolitică și liposolubilitatea; a fost elaborată o metodă nouă pentru urmărirea comportării acestor substanțe la nivelul suprafețelor polarizate, folosind pentru acest scop polarograful; au fost efectuate anumite cercetări privind acțiunea farmacodinamică a acestor compuși asupra organismului etc.

Am expus cîte ceva despre cercetările ce s-au efectuat în cadrul Institutului de biochimie al Academiei R.P.R., dar multe lucrări interesante și importante au fost efectuate și se efectuează și în alte unități, ca de exemplu la Institutul medico-farmaceutic din București, Institutul medico-farmaceutic din Timișoara, Institutul de neurologie „I. P. Pavlov" al Academiei R.P.R., Institutul de fiziologie normală și patologică, la spitalul Colțea, la spitalul Panduri, la laboratoarele de fiziologie animală ale Universităților din București și Iași etc. Pînă acum însă s-a lucrat mai mult izolat.

Tocmai de aceea s-a simțit nevoia organizării unei consfătuiri în cadrul căreia cei care lucrează la noi în domeniul substanțelor curarizante să se întîlnească, să expună pe scurt principalele rezultate obținute și să aducă contribuția lor la elaborarea tematicii de perspectivă pentru cercetările viitoare, astfel încît să se asigure acestor cercetări maximum de eficiență.

Este evident că schimbul de vederi între cei ce lucrează în problemele teoretice ale curarizării și cei ce aplică în mod curent substanțele curarizante în practica medicală poate fi deosebit de util, contribuind la îmbinarea armonioasă a teoriei cu practica, chezășia succesului în rezolvarea problemelor.

De aceea, Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. și Secția de fiziologie, biochimie și farmacologie a Societății științelor medicale au organizat consfătuirea, prima de acest gen în țara noastră.

Pentru a asigura dezbaterea acestei importante probleme la un nivel cît mai ridicat, programul consfătuirii cuprinde trei părți:

— La început vor fi prezentate cîteva referate de ansamblu, privind diferite aspecte ale problemei substanțelor curarizante, văzute prin prisma realizărilor de la noi și prin prisma experienței cîștigate.

— Vor fi prezentate apoi cîteva comunicări originale.

— În fine vor avea loc discuții, pentru ca împreună să ajungem la elaborarea unui plan tematic de perspectivă, realizînd, legături și chiar colaborări între diferitele instituții interesate în problema substanțelor curarizante.

Încheind, țin să mulțumesc în numele tuturor atît conducerii Academiei R.P.R. cît și conducerii Societății științelor medicale, pentru sprijinul dat în legătură cu organizarea acestei consfătuiri. Totodată, exprim convingerea că lucrările consfătuirii noastre vor contribui la intensificarea și aprofundarea cercetărilor în domeniul substanțelor curarizante în R.P.R.

SUBSTANȚE CURARIZANTE DE SINTEZĂ. UNELE RELAȚII DINTRE STRUCTURA ȘI ACTIVITATEA LOR

DE

TRAIAN RĂDULESCU

Substanțele curarizante de sinteză sînt, după cum se știe, produși cu acțiune farmacodinamică similară diferitelor tipuri de curara.

Încă înainte de stabilirea constituției chimice spațiale a d-tubocurarinei, principiul activ al curarelor în tub, se cunoștea că prezența în moleculă a grupărilor cuaternare de amoniu este necesară pentru determinarea calității de substanță curarizantă.

Pînă în anul 1935 s-a sintetizat un număr relativ mic de săruri cuaternare de amoniu, derivate în special de la alcaloizi naturali și de la unele amine alchilice, arilice sau heterociclice. Toți acești produși au o activitate cu mult inferioară curarelor naturale sau prezintă acțiuni secundare. Stabilirea structurii chimice spațiale a d-tubocurarinei de către H. King [1], urmată de lucrările privind utilizarea ei în anestezie, determină un impuls și o orientare nouă în sinteza unor produși cu acțiune similară curarei. D. Bovet și colaboratori [2], [3] își îndreaptă cercetările în direcția obținerii unor produși cu o structură apropiată de aceea a d-tubocurarinei, mai ales în ceea ce privește prezența în moleculă a două grupări cuaternare de amoniu distanțate, precum și a unor punți oxigenate.

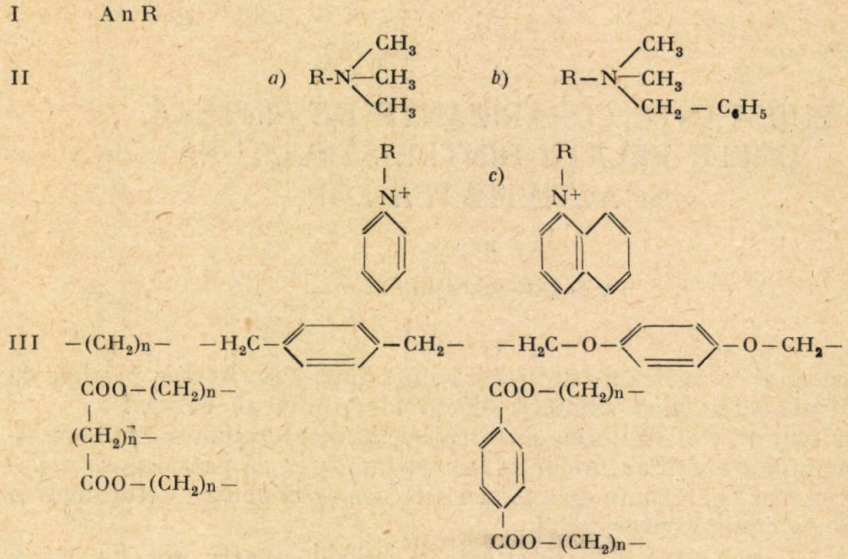
Astfel, din 1946 și pînă în prezent au apărut numeroase lucrări asupra substanțelor curarizante de sinteză, a căror amploare poate fi comparată cu aceea privind sulfamidele sau antimalaricele.

În general, majoritatea substanțelor curarizante de sinteză se pot încadra în formula generală AnR în care : A este gruparea funcțională activă „onium" care conferă moleculei activitate curarizantă (în special amoniu ; poate fi însă și sulfoniu, fosfoniu, arsoniu, sau stiboniu), iar R este un radical (gruparea atomică de legătură dintre grupările funcționale

active). Numărul grupărilor active „onium" este în general 2, dar poate fi și 1, 3 sau 4.

Atomul de azot din gruparea cuaternară activă „amonium" poate avea valențele satisfăcute de radicali alifatici, aril-alifatici sau poate fi inclus într-un heterociclu ca : piridină, piperidină, chinoleină, izochinoleină sau diverși alcaloizi (schema 1).

Schema 1



I. Formula generală a unei sări cuaternare :
A = grupare activă ; n = numărul grupărilor active ;
R = grupare atomică de legătură dintre grupările active.

II. Diferite modele de grupări active :
a) cu valențele azotului satisfăcute de radicali alifatici,
b) cu valențele azotului satisfăcute de radicali alifatici și arilalifatici,
c) cu atomul de azot inclus într-un heterociclu.

III. Diferite modele de grupări R de legătură.

Gruparea atomică de legătură, R, poate fi constituită din radicali alifatici, aril-alifatici sau heterociclici, ca atare sau cuprinzînd anumite funcțiuni ca : ester, eter, tioeter, amide substituite, amine substituite etc.

Cele mai importante substanțe curarizante de sinteză, cu două grupări cuaternare de amoniu, sînt cele ce se încadrează în următoarele grupe :

1. *Grupa derivaților biscuaternari în care gruparea de legătură este reprezentată printr-un lanț polimetilenic.* Din această grupă face parte una din cele mai active substanțe curarizante de sinteză utilizate în clinică : decametoniul sau dibromura de bis-(trimetilamoniu) decametilen. Sinteza acestui produs a fost realizată și la noi în țară, în laboratorul de farma-

cologie al Facultăţii de medicină din Bucureşti, de sub conducerea prof. A. Teitel.

2. *Grupa derivaţilor biscuaternari care includ în radicalul de legătură gruparea diester alifatic.* Din această grupă face parte succinilcolina sau diclorura esterului bis-[(2-trimetilamoniu)-etil]-succinic, substanţă folosită în clinică, caracterizată printr-o durată de acţiune mai scurtă datorită hidrolizei grupării esterice. A fost sintetizată şi la Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. [4].

3. *Grupa derivaţilor biscuaternari ai 2,5-bis-(alchilamino)-benzochinonei*, din care face parte o altă substanţă curarizantă valoroasă utilizată în medicină, mitolonul sau diclorura de 2,5-bis-(3-dietil-benzil-amoniu-propilamino)-benzochinona [5].

Dintre compuşii cu trei grupări cuaternare de amoniu prezintă interes derivaţii unor eteri aromatici, cel mai important fiind flaxedilul sau triiodura de 1,2,3-tris-(2-trietilamoniu-etoxi)-benzen folosit de asemenea în practica medicală [6].

Trebuie menţionat că există şi compuşi cu acţiune curarizantă care nu conţin gruparea funcţională activă „onium", ca : mianezina sau eterul α-(*o*-tolil)-gliceric şi miocain sau eter α-guaiacol-gliceric, care au un alt mecanism de acţiune.

Cercetarea activităţii farmacodinamice a substanţelor curarizante a permis să se tragă anumite concluzii privind dependenţa activităţii curarizante de următorii factori structurali :

1. Influenţa modificărilor structurale privind radicalii legaţi de grupările active „onium" sau gruparea de legătură.
2. Influenţa structurilor lipofilice.
3. Influenţa distanţei dintre grupările active „onium".

1. INFLUENŢA MODIFICĂRILOR STRUCTURALE

Încă din anul 1932, acad. E. Macovschi a ridicat pentru prima dată problema modificării proprietăţilor farmacodinamice ale homoneurinei (halogenură de trimetil-alil-amoniu) sintetizată de I. Weiss [7] şi dovedită a avea activitate curarizantă, prin înlocuirea grupării trimetilaminice cu diferite grupări heterociclice cu azot, provenite de la piridină, chinoleină etc. Cîteva homoneurine heterociclice de acest fel, preparate de E. Macovschi şi E. Ramonţianu [8], au fost cercetate din punct de vedere cronaximetric de biologul francez A. Klouche [9] care a constatat că au acţiune curarizantă. În urma constatării că activitatea farmacodinamică este cu atît mai intensă cu cît greutatea heterociclului este mai mare, E. Macovschi şi Al. Silberg [10] au sintetizat homoneurine derivate de la alcaloizi chininici (chinină, chinidină, cinconină şi cinconidină).

Pe de altă parte, E. P. Taylor şi H. O. I. Collier [11], cercetînd activitatea unor derivaţi polimetilenici ai izochinoleinei, au arătat că introducînd în nucleul izochinoleinic grupări metoxilice se potenţează activitatea curarizantă, ceea ce concordă şi cu faptul cunoscut că

d-tubocurarina, prin transformarea în eterul său dimetilic, își mărește activitatea în mod apreciabil. Tot ei au arătat influența stării de hidrogenare a nucleului în care se află inclus azotul și anume compusul izochinoleinic este mai puțin activ decît compusul corespunzător obținut prin hidrogenarea nucleului (izochinoleinic).

Recent, S. V. Anicikov [12] a arătat importanța structurii lanțului alifatic intermediar asupra acțiunii curarizante a unor săruri cuaternare de amoniu și în special rolul jucat de rigiditatea moleculei în determinarea caracterului mecanismului de acțiune (pahicuraric și leptocuraric).

2. INFLUENȚA STRUCTURILOR LIPOFILICE

C. I. Cavallito [13], într-un referat prezentat în cadrul Simpozionului de la Veneția, din 1958, referitor la substanțele curarizante, arată că structurile lipofilice pot influența prin valoarea lor lipofilică, ca și prin configurația lor sterică, atît apropierea cît și intensitatea de a se fixa de receptori a substanțelor curarizante, ceea ce are o influență favorabilă asupra activității acestora.

3. INFLUENȚA DISTANȚEI DINTRE GRUPĂRILE FUNCȚIONALE ACTIVE „ONIUM"

Rolul jucat de distanța dintre grupările cuaternare de amoniu asupra activității curarizante se poate vedea din studiul compușilor din seria α-ω-bis-(trialchilamoniu)-polimetilen, făcut de către R. B. Barlow și H. R. Ing [14] și Paton și Zaimis, studiu cu caracter cantitativ.

După cum se poate vedea din schema 2, decametoniul, a cărui grupare de legătură are o lungime de 15 Å, prezintă activitatea maximă.

Schema 2

$$\overline{X}\,(R)_3\overset{+}{N}-(CH_2)_n-\overset{+}{N}\,(R)_3\,\overline{X}$$

n	Activitate farmacodinamică *) Test căderea capului de iepure
De la 2—7 atomi de C	0,1 mg/kg corp
8 „	0,3 „ „
9 „	0,9 „ „
10 „	2,3 „ „
d-Tubocurarină	1 „ „

*) Datele citate de N. A. Preobrajenski și E. I. Genkina în tratatul:
Himia organiceskih lekarstvenih veşcestv.

Trebuie să menționăm că stabilirea tuturor acestor relații este rezultatul unor observații experimentale și nu are nici o justificare teoretică.

Cercetările făcute în cadrul Institutului de biochimie al Academiei R.P.R. în domeniul substanțelor curarizante aduc date noi, stabilind unele relații cantitative între activitatea curarizantă și structura chimică a sărurilor cuaternare de amoniu.

Încă mai demult acad. E. Macovschi a arătat că dacă substanțele curarizante acționează la nivelul membranelor postjuncționale de natură lipo-proteică, ele trebuie să se fixeze la aceste membrane și că reținerea s-ar face în funcție de gradul de lipofilie al sărurilor cuaternare. O dată fixate, ele ar acționa prin sarcina electrică pozitivă a atomului de azot, provocînd perturbări în încărcarea electrică a acestor membrane [15].

Pentru a putea urmări în ce măsură particularitățile de structură ale substanțelor curarizante, în general și gradul de lipofilie al grupării de legătură dintre funcțiunile active „onium" și puterea de disociație electrolitică, în special, se reflectă în activitatea curarizantă a sărurilor cuaternare de amoniu, s-a inițiat sinteza unor compuși cu anumite structuri și cu un raport lipofilie/hidrofilie diferit.

Astfel a fost sintetizat un număr de 90 produși derivați de la fenilendiamină, benzidină, *o*-dianisidină, diaminofluoren, diamino-benzalfluoren și de la stilbeni [16], [17], [18].

Cercetarea activității farmacodinamice a acestor compuși noi, ca și a altora cunoscuți și folosiți în practica medicală, a arătat în mod concludent importanța pe care o are pentru activitatea curarizantă gradul de lipofilie al grupării de legătură dintre funcțiile „onium". După cum se poate vedea din schema 3, derivatul benzidinic (cu două nuclee fenilen) este mult mai activ decît derivații fenilenici (*o*, *m*, *p*) [19].

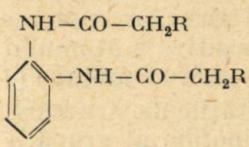
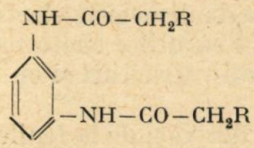
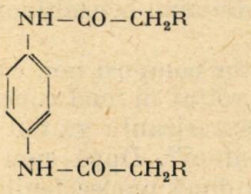
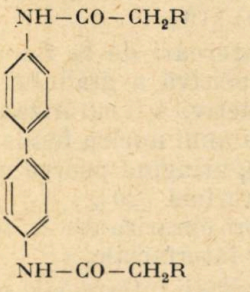
Studiul farmacodinamic al derivaților bis-cuaternari de la fluoren și benzalfluoren a arătat de asemenea influența pozitivă a gradului de lipofilie și a puterii de disociație electrolitică asupra activității curarizante. Într-adevăr, derivații de la benzalfluoren, posesori ai unui nucleu fenilenic în plus, au prezentat o activitate cu mult mai mare, atingînd pentru unii dintre ei ordinul de mărime al activității d-tubocurarinei [20].

Acest studiu farmacodinamic al substanțelor curarizante a fost completat cu un studiu polarografic al activității lor interfaciale.

Una dintre metodele pentru determinarea activității interfaciale este analiza de adsorbție pe cale polarografică. Această metodă este recomandată de H. Veldstra [21] pentru determinarea raportului lipofilie/hidrofilie al unei substanțe. După acest autor, membrana mercur/soluție prezintă analogie cu membrana ce se formează între faze lipofile/hidrofile și deci electrodul picător de mercur poate fi folosit pentru determinarea gradului de lipofilie. Extinderea metodei polarografice la studiul activității interfaciale a substanțelor curarizante a fost preconizată de X. Mămăligă [15] și i-a dat posibilitatea să lege activitatea farmacodinamică de gradul de lipofilie și de disociație electrolitică, reflectate în această activitate interfacială.

Activitatea interfacială a substanțelor curarizante a fost urmărită prin scăderea maximului de oxigen obținut prin polarografierea la aer a unei soluții de clorură de potasiu (0,002 N).

Schema 3

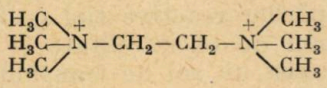
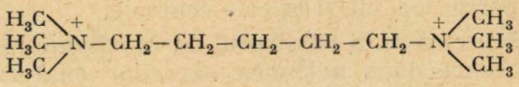
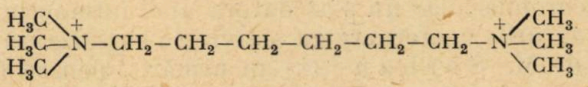
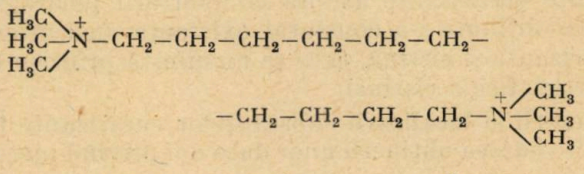
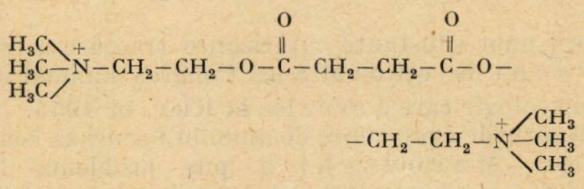
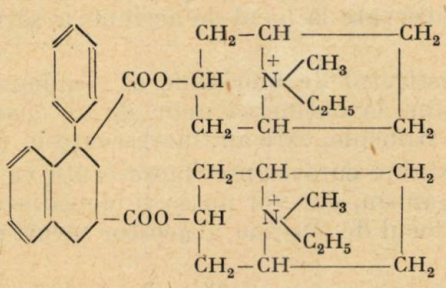
Formula generală $R=\left[-\overset{+}{N}\right]Cl^-$	Activitate farmacodinamică. Test : suprimarea reflexului de redresare la broască	Activitate interfacială $\frac{1 \text{ Mol}}{X.\ 10^4}$
	250 mg/kg corp	$X = 1,2$
	200 „ „	$X = 1,5$
	125 „ „	$X = 2$
	7,5 „ „	$X = 14,2$

Din cercetările făcute pe diferiți derivați (schema 3) s-a constatat că activitatea interfacială variază atît în funcție de gradul de lipofilie, iar în mai mică măsură de poziția sterică a grupării de legătură, cît și de distanța dintre cele două grupări cuaternare de amoniu. Deci, variația activității interfaciale este rezultatul acțiunii acelorași factori care influențează și activitatea curarizantă [19].

Compararea activității interfaciale și curarizante a unor substanțe cunoscute din seria sărurilor de metoniu (schema 4) ne conduce la concluzii asemănătoare [22].

Într-adevăr, aceşti compuşi cu radicalul de legătură format dintr-un lanţ polimetilenic de 2, 5 şi 6 grupări metilenice, au activităţi interfaciale şi farmacodinamice slabe.

Schema 4

Nr.	Substanţe	Activitate interfacială M/litri	Activitate curarizantă mg/kg corp
I		1/52	1,5 –2,5
II		1/181	1,5 –2,5
III		1/190	1,5 –2,5
IV		1/12 000	0,07–0,1
V		1/267	0,2 –0,3
VI		1/46 000	0,07–0,1

În cazul decametoniului, lanţul polimetilenic avînd un grad de lipofilie superior, determină un salt în activitatea interfacială şi în activitatea curarizantă.

Succinilcolina, cu o structură chimică apropiată de aceea a decametoniului, se încadrează atît prin activitatea interfacială, cît şi prin activitatea curarizantă, între hexa- şi decametoniu.

Compusul „C 100", cu o structură diferită, dar cu aceeași activitate curarizantă ca și decametoniul, prezintă o activitate interfacială de același ordin de mărime ca al decametoniului.

În general, pentru substanțele cu o structură asemănătoare se constată un paralelism între activitatea interfacială determinată pe cale polarografică și activitatea curarizantă.

Metoda polarografică de cercetare a substanțelor curarizante a permis și urmărirea influenței unor săruri cuaternare asupra cistinei. H. S. Coșt o i a n ț și școala sa [23], arătînd dependența fenomenelor bioelectrice de starea grupărilor —SH, atribuie grupărilor reactive tiol (—SH) ale substanțelor proteice un rol în fenomenul de excitabilitate și reglare nervoasă; mai precis, grupările tiol ar avea un rol de transmițător al excitației atît la sinapsele periferice, cît și la cele centrale.

Pornind de la această premisă, la Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. s-a pus problema dacă acțiunea sărurilor cuaternare de amoniu în blocajul neuromuscular nu s-ar datora unei interacțiuni între gruparea sulfhidril și sărurile cuaternare cu activitate curarizantă. Cercetările făcute *in vitro* de M. Ș e r b a n [24] au urmărit, pentru început, acțiunea unor substanțe curarizante asupra comportării polarografice a cistinei. Din rezultatele obținute s-a constatat existența unei interacțiuni între substanțele curarizante și cistină, care se manifestă printr-o creștere a înălțimii undei polarografice a cistinei.

Urmărirea răspîndirii și localizării substanțelor curarizante în organism prezintă interes în vederea obținerii unor date noi privind mecanismul lor de acțiune.

Problema obținerii unor substanțe curarizante trasoare a fost pusă de acad. E. M a c o v s c h i la cel de-al 8-lea Congres unional de fiziologie, biochimie și farmacologie care a avut loc la Kiev, în 1955.

Totodată, fiindcă sărurile cuaternare de amoniu formează coacervate cu unele proteine, acad. M a c o v s c h i a pus problema formării eventuale a unor astfel de coacervate la locul de acțiune a sărurilor cuaternare de amoniu.

Cercetările făcute la Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. de H. S c h e l l [25] au condus la obținerea unor săruri cuaternare de amoniu derivate de la nucleul stilbenic, care au fluorescență în ultraviolet.

Cu ajutorul acestor substanțe curarizante fluorescente va fi posibilă nu numai urmărirea lor în organism, dar vor putea fi identificate și eventualele coacervate formate la locul de acțiune a acestor săruri cuaternare de amoniu fluorescente.

Din cele expuse mai sus reiese necesitatea continuării cercetărilor cu privire la stabilirea unor noi relații între structura și activitatea farmacodinamică a sărurilor cuaternare de amoniu. Acest studiu ne-ar putea furniza indicații prețioase în vederea obținerii unor compuși cu acțiune selectivă, care ar permite utilizarea lor mai eficientă în clinică.

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R., București

СИНТЕТИЧЕСКИЕ КУРАРЕПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА НЕКОТОРЫЕ ОТНОШЕНИЯ МЕЖДУ ИХ ПОСТРОЕНИЕМ И АКТИВНОСТЬЮ

РЕЗЮМЕ

В первой части работы представлены главные синтетические кураре-подобные вещества, классифицированные по числу активных „ониевых" групп и по природе связывающих радикалов. В работе также показаны зависимость кураре-подобной активности от следующих структурных факторов: влияние изменений строения, влияние липофильных структур и расстояния между активными „ониевыми" группами.

Во второй части работы показаны исследования, выполненные в Институте Биохимии Академии РНР над кураре-подобными веществами. Эти исследования производились с целью проверки гипотезы Е. Маковского, согласно которой кураре-подобные вещества фиксируются на пост-соединительных мембранах, в зависимости от степени их липофильности и от степени электролитической диссоциации. Предполагается, что фиксированные вещества действуют посредством электроположительного заряда атома азота, вызывая пертурбации в электрическом заряде этих мембран.

Исследование фармакодинамической и межповерхностной активностей некоторых новых соединений, синтезированных в Институте, а также других используемых в медицинской практике, показало значение для кураре-подобной активности отношения между степенью липофильности и степенью электролитической диссоциации.

В Институте изучался также вопрос не является ли действие кураре-подобных веществ при нервно-мышечной блокировке следствием взаимодействия между этиоловыми группами и четвертичными солями, обладающими кураре-подобным действием. Проведенные „in vitro" опыты выявили существование взаимодействия между кураре-подобными веществами и цистином.

Для того, чтобы проследить за распространением и локализацией в организме кураре-подобных веществ в Институте были синтезированы трассирующие четвертичные соли, флуоресцирующие под действием ультрафиолетовых лучей.

SUBSTANCES CURARISANTES DE SYNTHÈSE. CERTAINES CORRÉLATIONS ENTRE LEUR STRUCTURE ET LEUR ACTIVITÉ

RÉSUMÉ

Dans la première partie du travail on présente les principales substances curarisantes de synthèse, classifiées suivant le nombre des groupes actifs «onium» et la nature des radicaux de liaison. On montre aussi la

dépendance de l'activité curarisante des facteurs structuraux suivants : influence des modifications structurales, influence des structures lipophiles et influence de l'espacement des groupements actifs «onium».

Au cours de la deuxième partie du travail sont présentées les recherches effectuées à l'Institut de Biochimie de l'Académie de la R.P.R. dans le domaine des substances curarisantes. Ces recherches ont poursuivi la vérification de l'hypothèse de E. Macovschi, suivant laquelle les substances curarisantes se fixent au niveau des membranes post-jonctionales, en fonction de leur degré de lipophilie et de leur degré de dissociation électrolytique. Une fois fixées, elles agiraient par la charge électrique positive de leur atome d'azote, en provoquant des perturbations des charges électriques de ces membranes.

La recherche de l'activité pharmacodynamique et de l'activité interfaciale, de certains composés nouveaux, obtenus par synthèse dans cet Institut, et de certains autres, utilisés dans la pratique médicale, a montré d'une façon frappante l'importance que présente, pour l'activité curarisante, le rapport entre le degré de lipophilie et le pouvoir de dissociation électrolytique. On a également recherché, à l'Institut de Biochimie, si l'action des substances curarisantes dans le blocage neuro-musculaire est due à une interaction entre les groupements thiol et les sels quaternaires à action curarisante. Des expériences, effectuées *in vitro*, ont permis de mettre en évidence l'existence d'une interaction entre les substances curarisantes et la cystine. Pour pouvoir suivre la dissémination et la localisation des substances curarisantes dans l'organisme, on a fait à l'Institut de Biochimie la synthèse de sels quaternaires traceurs qui deviennent fluorescents dans l'ultraviolet.

BIBLIOGRAFIE

1. H. KING, *Curare Alkaloids. I. Tubocurarine*, J. Chem. Soc., 1381—89 (1935).
2. D. BOVET, S. COURVOISIER, R. DUCROT, R. HORCLOIS, *Propriétés curarisantes du di-iodoéthylate de bis-(quinoléyl oxy-8′)—1,5-pentane*, C.R. Ac. Sc., **223**, 597 (1946).
3. — *Propriétés curarisantes dudi- iodo-methylate de bis- (diméethylamino-2′-phénoxy)-1,5 pentane*, C.R. Ac. Sc., **224**, 1733 (1947).
4. S. GHEORGHE, H. SCHELL, *Sinteza succinilcolinei (diclorura)*, Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *2*, 167 (1958).
5. C. I. CAVALLITO, A. E. SORIA, I. O. HOPPE, *Amino and ammonium-alkylamino-benzoquinones as curarimimetic agents*, J. Am. Chem. Soc., **72**, 2661 (1950).
6. Y. de LESTRANGE, Ann. Pharm. France, *6*, 450, 450—52 (1948); Chem. Abstr., **43**, 6365[b] (1949).
7. I. WEISS, *Über das Alkyl-trimethylammonium Chlorid und Iodid*, Ann. Chem., **268**, 147 (1892).
8. E. MACOVSCHI, E. RAMONȚIANU, *Synthesen in der Homoneurinreihe*, Journ. prakt. Chem., seria a 2-a, **135**, 137 (1932).
9. A. KLOUCHE, *Action des dérivés de l'homoneurine sur l'excitabilité du sciatique et du gastrocnémien de la grenouille*, C.R. Soc. Biol., **117**, 690 (1934).
10. E. MACOVSCHI, Al. SILBERG, *Synthesen in der Homoneurinreihe*, Journ. prakt. Chem., seria a 2-a, **135**, 237 (1932)..
11. E. F. TAYLOR, H. O. I. COLLIER, *Synthetic curarizing agents structuraly related to d-o, o-Dimethyl tubocurarine*, Nature, **167**, 692—93 (1951); C., 55 (1952).

12. S. V. ANICIKOV, S. V. HROMOV-BORISSOV, *Relations structure-activité de certains curarisants de synthèse*, Atti XI Congresso Societa Italiana di Anestesiologia, Simposio internazionale su curaro, curarosimili e curarizzanti, Venezia, 12—15 sept., 1958.
13. C. I. CAVALLITO, *Influences of lipophilic chemical structures on curarimimetic and other activities of some quaternary ammonium salts*, Atti XI Congresso Societa Italianadi Anestesiologia, Simposio internazionale su curaro, curarosimili e curarizzanti, Venezia, 12—15 sept., 1958.
14. R.B. BARLOW, H. R. ING, *Curare-like action of polymethylene bis-quaternary ammonium*, Nature, London, **161**, 718 (1948).
15. X. MĂMĂLIGĂ, *Cercetarea polarografică a activităţii interfaciale a unor săruri cuaternare de amoniu*, Com. Acad. R.P.R., **V**, *11*, 1583 (1955).
16. S. GHEORGHE, H. SCHELL, *Săruri curarizante biscuaternare de amoniu cu funcţii amidice. I. Bis-oniumacetilderivaţi ai o-, m-, p-fenilendiaminei, benzidinei şi o-dianisidinei*, Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *3*, 247 (1958).
17. Tr. RĂDULESCU, S. VASU, *Unele săruri de amoniu cuaternar derivate de la 2-aminofluoren şi 2,7-diaminofluoren*, Com. Acad. R.P.R., **VIII**, *8*, 793 (1958).
18. F. DOBRESCU, *Săruri cuaternare de amoniu derivate de la 2,5- şi 2,7-diaminofluoren*. Studii şi cercetări de chimie, *1*, 157—171 (1960).
19. X. MĂMĂLIGĂ, S. GHEORGHE, *Cercetarea polarografică a activităţii interfaciale a unor săruri cuaternare de amoniu de tipul bis-oniumacetil derivaţi ai o-, m-, p-fenilendiaminei şi benzidinei*, Studii şi cercetări de biochimie, **2**, *1*, 73 (1959).
20. C. MEDEŞAN, M. STOICA, *Acţiunea unor săruri cuaternare de amoniu derivate de la fluoren şi benzalfluoren asupra organismului animal* (sub tipar).
21. H. VELDSTRA, *Balance hydrophile-lipophile des composés organiques, son importance pour leur action physiologique*, Bull. Soc. Chim. Biol., **31**, 594 (1949).
22. X. MĂMĂLIGĂ, M. ŞERBAN, *Cercetarea polarografică a activităţii interfaciale a unor substanţe curarizante utilizate în medicină*, Com. Acad. R.P.R., **VIII**, *4*, 375 (1958).
23. Х. С. Кощтоянц, *Ензимологическая гипотеза возбуждения*, Физиол. журнал, СССР, **XXXVI**, *1*, 92—96 (1950).
24. M. ŞERBAN, *Acţiunea unor săruri cuaternare de amoniu cu activitate curarizantă asupra comportării polarografice a cistinei*, Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *4*, 369 (1958).
25. H. SCHELL, *Săruri cuaternare de amoniu derivate de la stilbeni* (sub tipar).

MECANISMUL METABOLIC AL ACȚIUNII CURARIZANTE

DE

I. COTĂESCU

În privința acțiunii curarizante există un acord aproape unanim că e vorba de o acțiune care face mușchiul striat incapabil să răspundă la solicitarea colinergică, că acțiunea este periferică și că doza mortală determină moartea prin paralizia musculaturii respiratorii, ca o consecință a incapacității acestei musculaturi de a răspunde la solicitarea inervației colinergice.

În ceea ce privește mecanismul acțiunii, există două păreri :

1. substanțele curarizante blochează sinapsa neuro-musculară,
2. substanțele curarizante modifică metabolismul mușchiului striat.

Prima părere se bazează pe o ipoteză mai generală, referitoare la posibilitatea medicamentelor de a fi active prin blocarea sinapselor colinergice, deopotrivă neuro-musculare și neuro-neurale. Această ipoteză întrevede trei posibilități :

a) înlăturarea competitivă a acțiunii mediatorului chimic,

b) activarea colinesterazelor în măsura în care face ineficace acțiunea mediatorului chimic și

c) blocarea transmiterii solicitării funcționale prin depolarizarea joncțiunii neuro-musculare sau neuro-neurale.

Astfel lărgită, ipoteza acțiunii medicamentelor în sinapse a dus printre altele și la concepția deconectării prin ganglioplegie, la explicarea acțiunii atropinei și, în general, a acțiunii anticolinergice, precum și la explicarea acțiunii unor substanțe de tip colinergic, prin blocarea sinapselor printr-unul din mecanismele amintite.

A doua părere a fost formulată și susținută de L. L a p i c q u e [13] pe baza determinărilor cronaximetrice : modificarea cronaxiei mușchiului demonstrează că are loc o modificare în mușchi și nu în sinapse.

Ca material faptic pentru susținerea ipotezei acțiunii sinaptice *in vivo*, ca și *in vitro*, nu s-a adus încă nici un argument hotărîtor, cum ar fi de exemplu demonstrarea nemodificării metabolismului mușchiului striat curarizat.

Dacă acțiunea curarizantă ar consta în blocarea sinapsei neuro-musculare, fără modificarea metabolismului mușchiului, ar trebui ca și novocainizarea nervului sau rahianestezia să fie deopotrivă curarizante sau, cu alte cuvinte, ar însemna că blocarea oriunde a excitației nervoase să determine curarizarea, ceea ce evident nu e cazul.

Blocarea joncțiunii neuro-musculare ar putea explica cel mult lipsa de răspuns a mușchiului striat *in vivo*, presupunînd blocarea solicitării continue care întreține tonusul muscular și a excitațiilor care determină contracția tetanică a mușchiului, dar nu poate explica curarizarea preparatului neuro-muscular : modificarea cronaxiei mușchiului independent de existența unei solicitări nervoase continue.

Din contră, dacă se admite că acțiunea curarizantă este rezultatul modificării metabolismului mușchiului striat, faptele cunoscute se pot explica.

În cele ce urmează se vor expune pe scurt rezultatele obținute *in vitro* și *in vivo*, care vorbesc în sensul că acțiunea curarizantă e legată de modificarea într-un anumit sens a metabolismului mușchiului striat.

Într-o serie de cercetări făcute pe inima izolată de broască, în perfuzie continuă, s-a arătat [1], [2], [5], [6] ,[7], [8], [9] că între frecvența și amplitudinea bătăilor automate și bilanțul energetic există totdeauna o perfectă corespondență, în sensul că la imagini grafice similare corespund modificări metabolice în același sens.

Rezultatele obținute pot fi sintetizate astfel :

Din punctul de vedere al sensului în care modifică metabolismul, medicamentele se împart în două grupe : asfixice aerobe și antiasfixice aerobe.

Asfixicele aerobe, fără a modifica respirația, produc excitație → inhibiție de epuizare, pînă la oprirea bătăilor, adică, după doză și durata perfuziei, produc creșterea frecvenței, scăderea frecvenței pînă la oprire, întotdeauna cu scăderea amplitudinii și cu mineralizarea fosforului (acidului fosforic legat sub formă de fosforil macroergic).

Antiasfixicele aerobe determină de obicei, cu creșterea consumului de oxigen, scăderea progresivă a frecvenței, pînă la oprire, dar cu creșterea amplitudinii și cu demineralizarea fosforului (fixarea acidului fosforic mineral, în special sub formă de fosforil macroergic).

În figura 1 este dată imaginea unei perfuzii cu Ringer și fondul metabolic pe care această perfuzie îl realizează : descreșterea treptată a consumului de oxigen și a vitezei de mineralizare a fosforului, paralel cu descreșterea amplitudinii contracțiilor.

În figura 2 sînt date imagini contrare (scăderea frecvenței cu creșterea amplitudinii), determinate de medicamente antiasfixice aerobe sub acțiunea cărora se produce o intensă demineralizare a fosforului : efecte similare obținute cu medicamente variate și în doze care oglindesc electivitatea medicamentului pentru miocardul de broască. Printre aceste medicamente se găsește și d-tubocurarina.

Cele două mecanisme metabolice care determină imagini grafice opuse pot fi caracterizate prin bilanțul fosforului macroergic, bilanț rezultat din raportul dintre viteza fosforilării oxidative = viteza refacerii

oxidative a legăturilor macroergice fosfatice ($V_{R\sim P}$) și viteza utilizării acestora ($V_{u\sim P}$),

$$V_{R\sim P} < V_{u\sim P} = \text{bilanț} \sim P \text{ negativ},$$
$$V_{R\sim P} > V_{u\sim P} = \text{bilanț} \sim P \text{ pozitiv}.$$

Se poate demonstra că

$$V_{R\sim P} < V_{u\sim P}\ P = \text{predominanța dezasimilației},$$
$$V_{R\sim P} > V_{u\sim P} = \text{predominanța asimilației}.$$

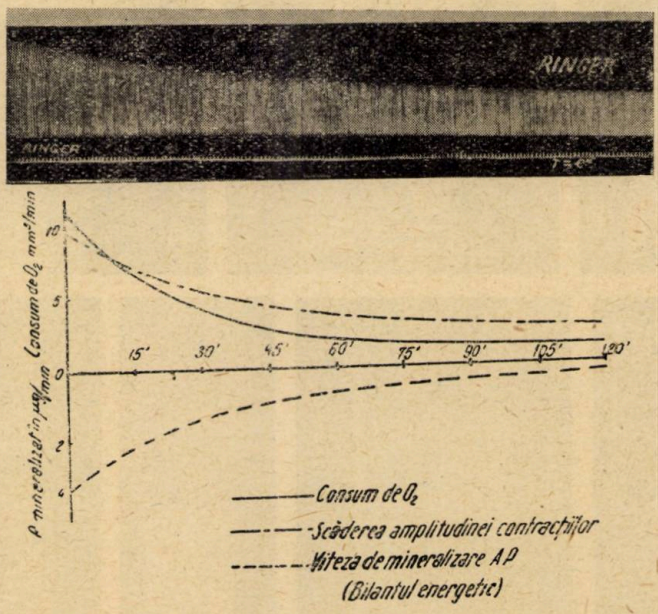


Fig. 1. — Sus — inimă izolată de broască, perfuzie continuă cu Ringer; jos — raportul dintre amplitudinea contracțiilor, consumul de oxigen și viteza de mineralizare a fosforului în funcție de timpul scurs de la recoltarea organului. Amplitudinea contracțiilor, consumul de oxigen și viteza de mineralizare a P tind să devină constante.

În mod natural, după acțiunea unui excitant de tip asfixic aerob urmează o perioadă de inhibiție secundară de refacere, indiferent dacă excitantul a produs numai excitație sau și inhibiție de epuizare.

Mecanismul inhibiției secundare de refacere și al inhibiției primare de refacere, determinat de antiasfixicele aerobe, este același: predominanța asimilației cu bilanț $\sim P$ pozitiv.

Asfixicele aerobe determină excitație — inhibiție de epuizare, după toate probabilitățile, prin excitarea sau activarea acțiunii ATP-azice-fosfohexokinazice a structurilor contractile. Din această categorie

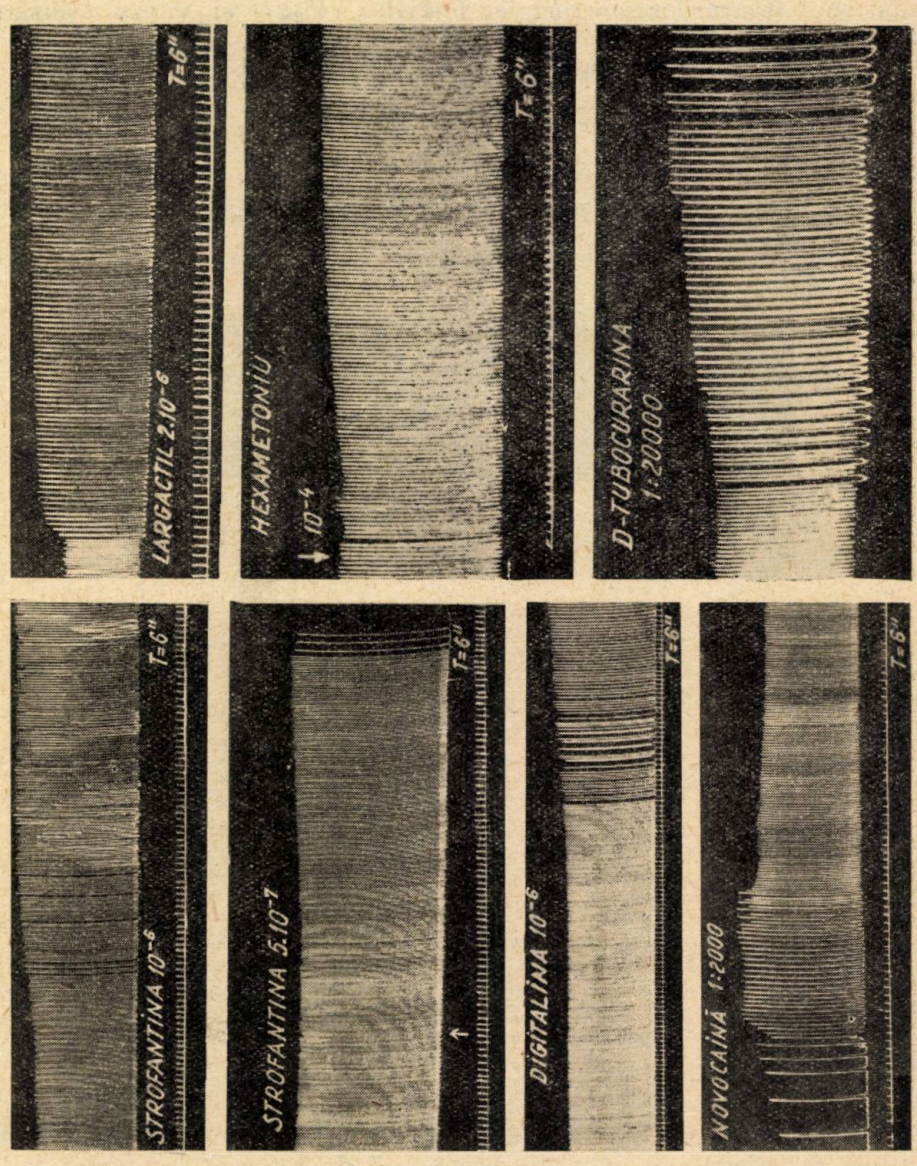


Fig. 2. — Imagini de perfuzie continuă a inimii izolate de broască cu substanţe din grupa antiasfixicelor aerobe sub acţiunea cărora creşte amplitudinea contracţiilor, cu scăderea frecvenţei. Stînga, de sus în jos — strofantină, digitalină şi novocaină. Graficul obţinut cu perfuzia de novocaină arată o imagine tipică de „spălare" : după ce inima a fost oprită sub acţiunea perfuziei de novocaină 1 : 2 000, perfuzia numai cu Ringer determină imaginea caracteristică pentru toate antiasfixicele aerobe. Dreapta, de sus în jos — largactil, hexametoniu, d-tubocurarină.

fac parte: acetilcolina, histamina, prostigmina, nicotina, muscarina, K^+ și altele.

Sînt antiasfixice aerobe, determinînd predominanța oxidării și a fosforilării oxidative, probabil fără modificarea directă a activității ATP-azice—fosfohexokinazice a structurilor contractile: medicamentele cu nucleu steranic, opiaceele, uretanul, atropina, curara și altele.

Intensitatea acțiunii medicamentelor depinde de specie (electivitate biologică), de organ (electivitate de substrat) și de starea funcțională a substratului de electie: acțiunea este cu atît mai intensă cu cît solicitarea lui funcțională este mai mare.

După datele noastre, atropinizarea musculaturii netede și curarizarea musculaturii striate reprezintă acțiuni similare, dar cu intensitate diferită, întocmai după cum nicotina este mai activă pe țesuturile N-colinoreactive și muscarina pe țesuturile M-colinoreactive.

Antagonismul acetilcolină-atropină pe țesuturile M-colinoreactive este de același ordin cu antagonismul curara-acetilcolină pe țesuturile N-colinoreactive. Acetilcolina și similarele (asfixice aerobe) determină excitație prin activarea ATP-azelor-fosfohexokinaze contractile cu bilanț $\sim P$ negativ și cu predominanța dezasimilației. Atropina și curara determină predominanța asimilației oxidative cu bilanț $\sim P$ pozitiv (antiasfixice aerobe).

În concluzie, curara și curarizantele (flaxedil, d-tubocurarina etc.) determină în musculatura striată o puternică inhibiție primară de refacere cu bilanț $\sim P$ pozitiv, cu scăderea excitabilității (ceea ce explică creșterea cronaxiei), adică un mecanism identic cu al inhibiției secundare de refacere, care se instalează în mod natural după excitație, dar de intensitate proporțională cu doza întrebuințată și cu electivitatea medicamentelor pentru musculatura striată.

Aceste concluzii se verifică în plus prin datele care urmează:

Din musculatura iepurilor tratați în prealabil cu d-tubocurarină se poate extrage o cantitate de ATP mai mare cu 30% decît din musculatura animalelor martor omorîte după anestezie cu sulfat de magneziu și cu mult mai mare decît din musculatura animalelor omorîte prin sîngerare, fără administrare prealabilă de d-tubocurarină sau de sulfat de magneziu [3].

Pe diafragmul de șobolan în Tyrode cu circa 30 μg P (fosfat)/ml, d-tubocurarina determină demineralizarea fosfatului. La martori, în aceleași condiții se produce mineralizarea fosfatului. Fosfatul fixat față de martori este de 178 μg/g/h pentru concentrația de 10^{-5} și de 149 μg/g/h pentru concentrația de 10^{-6}.

Rezultate similare se obțin pe creier și pe carcinom ascitic Ehrlich (I. Cotăescu și M. Mihăilescu, date încă nepublicate).

Faptul că acțiunea curarizantă constă într-o modificare într-un anumit sens a metabolismului mușchiului striat poate fi demonstrat și prin înregistrarea continuă a potențialul redox muscular. Potențialul redox muscular oscilează la mamifere și la om în jurul a 0,22 V [11], cu negativare (predominanța formelor red a sistemelor redox biologice) în excitație cu bilanț $\sim P$ negativ, adică atunci cînd predomină dez-

asimilația și cu pozitivare în inhibiția de refacere primară sau secundară (predominanța formelor ox. a sistemelor redox biologice) cu bilanț $\sim P$ pozitiv și predominanța asimilației. Sub acțiunea asfixicelor aerobe, potențialul redox se negativează, iar sub acțiunea antiasfixicelor aerobe (inclusiv curarizante) potențialul se pozitivează (figura 3 : determinări făcute de R. A. Silveanu și S. Kecskemety, din [12]).

Pentru acțiunea curarizantă (predominanța asimilației oxidative) e necesar ca aportul de oxigen să fie asigurat. Prin determinarea potențialului redox în musculatura striată, se constată că dozele de substanță curarizantă capabile să producă tulburări de respirație împiedică acțiunea curarizantă. S-ar putea trage concluzia că dozele mari, mortale, de curarizante nu determină moartea numai prin paralizia musculaturii respiratorii, ci și prin paralizia centrului respirator. Acțiunea d-tubocurarinei pe secțiuni de creier, amintită mai sus, precum și rezultatele obținute de V. Vasilescu și colaboratori [14] prin metoda capului izolat, par să îndreptățească această părere.

Curarizarea mușchiului striat poate fi făcută în măsura în care acesta să nu mai răspundă la solicitarea colinergică, dar și în grade „subfiziologice", care să determine numai scăderea excitabilității. Prin aceasta se poate demonstra că substanțele curarizante se deosebesc de alte inhibante în primul rînd printr-o electivitate deosebită pentru musculatura striată.

În doze necurarizante, d-tubocurarina este antagonist al solicitării colinergice determinate de o doză mortală de toxină tetanică. Experiențe făcute pe șoareci [4] arată că cu 2,5 μg d-tubocurarină administrată zilnic intraperitoneal, timp de 15 zile, toți șoarecii inoculați cu doza mortală de 25 μg toxină tetanică rămîn în viață. În schimb, administrarea aceleiași doze de d-tubocurarină timp îndelungat face ca atît șoarecii normali cît și cei inoculați cu toxină tetanică să moară începînd din ziua a 20-a. Aceasta arată că d-tubocurarina este toxică și în doze necurarizante, prin însumare.

Acțiunea curarizantă apare numai ca intensitate o acțiune proprie în special unor medicamente, altfel numeroase substanțe au o puternică acțiune inhibantă asupra musculaturii striate, în concordanță cu cele ilustrate în figura 3 *).

Relaxarea musculară care se obține în narcoza potențată nu este datorită decît într-o foarte mică măsură reducerii capacității reflexogene a sistemului nervos. Relaxarea se produce în special prin acțiunea periferică exercitată asupra metabolismului mușchiului striat de medicamentele folosite (morfină și similare, fenotiazine, atropină). În acest sens vorbesc determinările noastre de potențial redox muscular făcute în anestezie la om [11] după cum se vede din figura 4 curba *1* : anestezie generală cu eter, pe fond de dolantinmecodil. Eterul administrat prin inhalație cu aparat de baronarcoză, prin sondă traheală și sub administrare continuă de oxigen, care continuă și după scoaterea sondei traheale (a doua săgeată în jos). Anestezie foarte bună.

*) Atropină $\sim\cdot\sim\cdot\sim\cdot$, tubocurarină — — — —, flaxedil ——— , piramidon = = = , codeină ———, prostigmină · · · · · , 2,4 dinitrofenol —.—.—.

Curbele *2*, *3*, *4* și *5* : rahianestezii. Rahianestezie pe fond de morfină-atropină (*2*), pozitivare intensă, continuă. Anestezie foarte bună. Simplă rahianestezie (*3*) cu rezultat obișnuit. În *4*, simplă rahianestezie cu rezultat mediocru, din care cauză se fac două injecții de largactil (săgețile în sus).

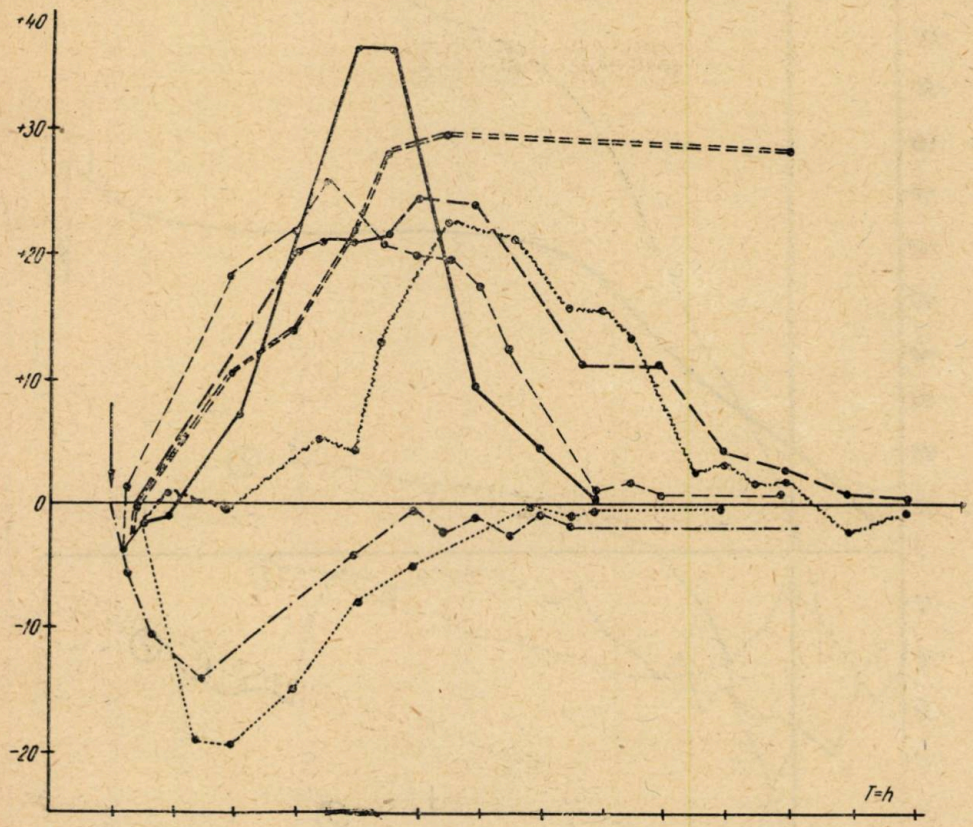


Fig. 3. — Determinări de potențiale redox rezultate din musculatura striată *in vivo* (cobai fără narcoză). Asfixicii aerobi : prostigmina și 2,4 — dinitrofenolul determină negativarea potențialului redox. Antiasfixicii aerobi : atropina, d-tubocurarina, flaxedilul piramidonul și codeina determină pozitivarea potențialului redox.

Rahianestezie pe fond de dilauden-scopolamină (*5*) : stare de șoc cu colaps (intervenție pentru neoplasm de cap de pancreas). De remarcat că simpla rahianestezie (curbele *3* și *4*) nu împiedică apariția unei negativări o dată cu începerea traumatismului chirurgical, iar în șocul cu colaps negativarea inițială nu mai este urmată de o pozitivare secundară (curba *5*).

Curbele *6* și *7*, anestezii locale cu novocaină : o anestezie foarte bună pe fond de dilauden-scopolamină (*6*) pentru gastrectomie și o anestezie mediocră la un hipertiroidian (tiroidectomie), cu toată pregătirea anterioară de bază cu dolcontral-largactil-luminal (*7*).

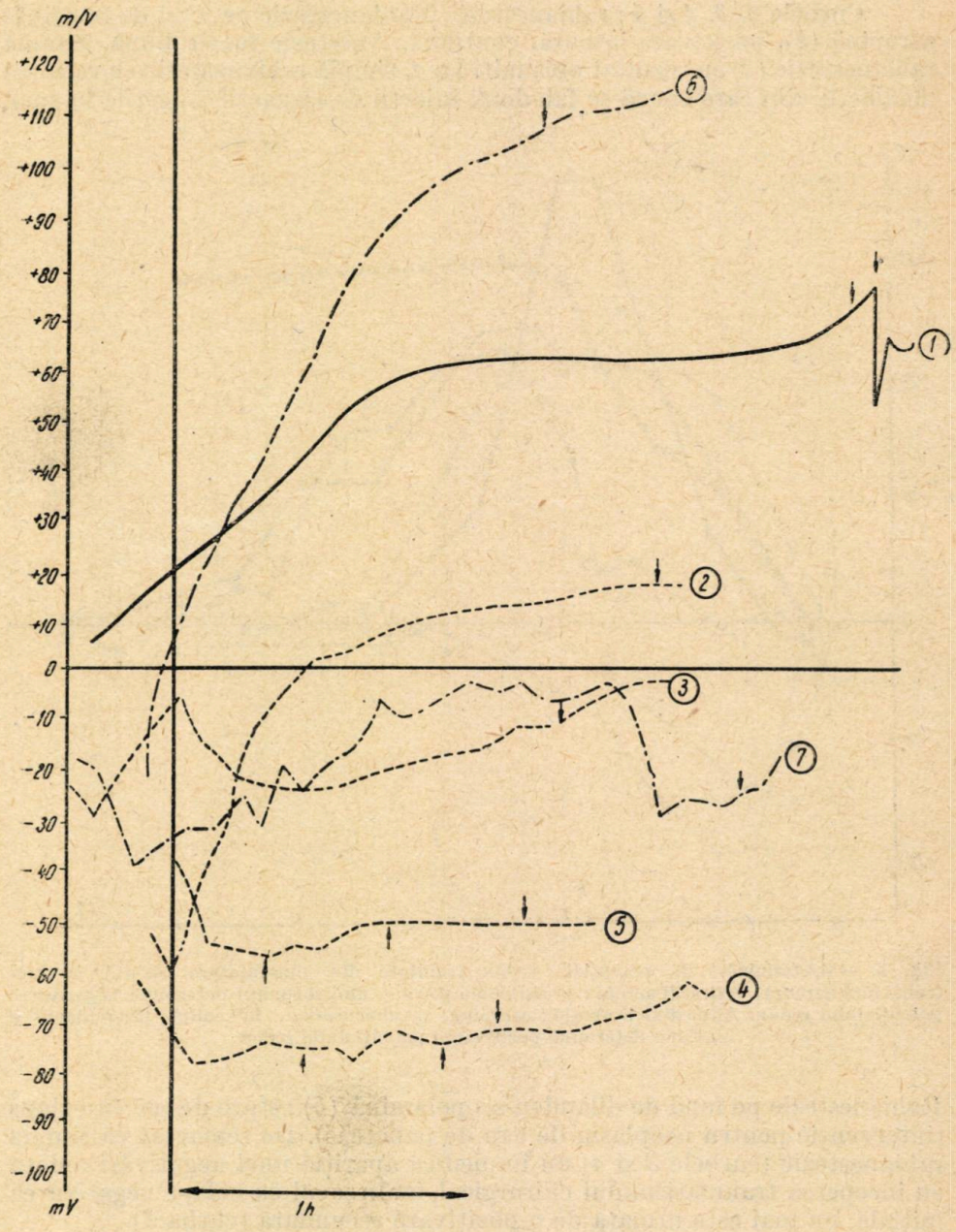


Fig. 4. — Determinări de potențial redox în musculatura striată în timpul anesteziei la om. Linia de zero indică potențialul semicelulei de referință (semicelula de calomel cu soluție saturată de KCl cu $E = 0{,}244$ V pentru 20°C, față de semicelula de referință standard : semicelula de hidrogen cu $E_0 = 0{,}000$ V). Pentru toate curbele, linia verticală arată începutul intervenției chirurgicale, iar prima săgeată în jos sfîrșitul intervenției chirurgicale.

Se constată că simpla rahianestezie nu determină decît o foarte ușoară pozitivare a potențialului redox. Din contră, morfina (dolcontral, mecodil) și atropina (scopolamina) se comportă ca inhibante. Și acestea sînt prin acțiunea lor „curarizante", așa după cum este și sulfatul de magneziu. Pentru aceste medicamente, țesutul de electție nu este însă mușchiul striat, ci sistemul nervos, iar acțiunea asupra acestuia trece pe primul plan și, din această cauză, acțiunea periferică inhibantă a medicamentelor amintite a fost foarte puțin studiată.

Aceleași concluzii se degajă și din însumarea în același sens a acțiunii narcoticelor cu acțiunea d-tubocurarinei și a flaxedilului. Administrarea curarizantelor simultan cu un anestezic general, la șobolani și cobai, potențează în doze mici acțiunea narcotică, o împiedică în doze mijlocii prin tulburările respiratorii pe care le produce, iar în doze mai mari determină moartea animalelor. În aceste condiții toxicitatea curarizantelor este de 10—20 ori mai mare decît dacă sînt administrate singure (I. Cotăescu și E. Cotăescu, material încă nepublicat).

CONCLUZII

Acțiunea curarizantă se caracterizează prin modificarea metabolismului mușchiului striat și nu prin blocarea sinapsei neuro-musculare.

Curarizarea este o intensă inhibiție de refacere primară, cu predominanța fosforilării oxidative cu bilanț $\sim P$ pozitiv cu predominanța asimilației, acțiune posibilă în prezența unui aport de oxigen corespunzător.

Acțiunea substanțelor curarizante nu se deosebește decît prin intensitate și electivitate de acțiunea inhibantă a altor medicamente, cum ar fi novocaina, opiaceele, atropina și sulfatul de magneziu.

Curarizantele pot fi folosite ca inhibante elective în doze necurarizante.

Antagonismul acetilcolină-curarizante este de ordin metabolic, ca și antagonismul atropină-acetilcolină, încadrîndu-se în mecanismul general al antagonismului dintre asfixicele aerobe și antiasfixicele aerobe.

I.M.F., Catedra de fiziopatologie,
Timișoara

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ КУРАРЕПОДОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

РЕЗЮМЕ

В работе представлены данные, потверждающие гипотезу, согласно которой кураре подобное действие характеризуется изменением метаболизма поперечно-полосатой мышцы. Предполагается, что кураре подобное действие является интенсивным торможением первичного восстанов-

ления, с преобладанием окислительно фосфорилирования и ассимиляции, возможной в присутствии соответствующего притока кислорода.

Показано, что действие кураreподобных веществ отличается от тормозящего действия других медикаментов как новокаин, опийные препараты и т.д. лишь по интенсивности и селективному действию. Кураreподобные вещества можно применять в качестве селективных тормозящих веществ в некураризирующих дозах.

Показано, что антагонизм ацетилхолин — кураreподобные вещества — метаболического характера: он включается в общий механизм антагонизма между аэробными удушающими и противоудушающими веществами.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Наверху — изолированное сердце лягушки, непрерывная перфузия раствором Рингера; внизу — отношение между амплитудой сжатия, потреблением кислорода и скоростью минерализации фосфора, в зависимости от времени, истекшего с момента взятия органа. Амплитуда сжатия, потребление кислорода и скорость минерализации фосфора стремятся стать постоянными.

Рис. 2. — Изображения непрерывной перфузии изолированного сердца лягушки аэробными противоудушающим и веществами, под действием которых возрастает амплитуда сжатия и понижается его частота.

Слева, сверху вниз — строфантин, дигиталин и новокаин. График, полученный при перфузии новокаина, соответствует типичному изображению „промывания"; после того как сердце было остановлено под действием перфузий новокаина 1 : 2000, перфузия только раствора Рингера приводит к изображению, характерному для всех аэробных антиудушающих веществ. Справа, сверху вниз — ларгактил, гексаметоний, d — тубокурарин.

Рис. 3. — Определения окислительно-восстановительного потенциала поперечно-полосатых мышц in vivo (морская свинка без наркоза). Аэробные удушающие вещества; простигмин и 2,4—динитрофенол приводят к отрицательным значениям окислительно-восстановительного потенциала. Аэробные противоудушающие вещества; атропин, d-тубокурарин, флакседил, пирамидон и кодеин приводят к положительным значениям восстановительно-окислительного потенциала.

Рис. 4. — Определения восстановительно-окислительного потенциала в поперечно-полосатых мышцах во время анестезии у человека. Нулевая линия показывает потенциал полуэлемента сравнения (каломельный полуэлемент с насыщенным раствором KCl, для которого E = 0,244 в при 20°C, по сравнению с нормальным полуэлементом сравнения: водородный полуэлемент, для которого E_0 = 0,000 в). Для всех кривых вертикальная линия показывает начало, а первая стрелка, направленная вниз, — окончание хирургического вмешательства.

LE MÉCANISME MÉTABOLIQUE DE L'ACTION CURARISANTE

RÉSUMÉ

On présente quelques arguments à l'appui de l'hypothèse suivant laquelle l'action curarisante serait caractérisée par la modification du métabolisme du muscle strié. On considère la curarisation comme une intense inhibition de la réfection primaire, avec prédominance de la

phosphorylation oxydative et de l'assimilation. Cette action est possibl en présence d'un apport suffisant d'oxygène.

On montre que l'action des substances curarisantes ne diffère que par son intensité et par son électivité de l'action inhibitive des autres médicaments, tels que la novocaïne, les opiacés, etc. Les substances curarisantes peuvent être utilisées comme inhibiteurs électifs à des doses non curarisantes.

On montre que l'antagonisme acétylcholine — substances curarisantes est de nature métabolique. Ce phénomène trouve sa place dans le cadre du mécanisme général de l'antagonisme entre les substances asphyxiques aérobies et les substances antiasphyxiques aérobies.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — *En haut* — Cœur isolé de grenouille, perfusion continue avec solution de Ringer ; *en bas* : rapport entre l'amplitude des contractions, la consommation d'oxygène et la vitesse de minéralisation du phosphore, en fonction du temps écoulé à partir du prélèvement de l'organe. L'amplitude des contractions, la consommation d'oxygène et la vitesse de minéralisation du phosphore tendent à devenir constantes.

Fig. 2. — Images reflétant la perfusion continue du cœur isolé de grenouille avec des substances du groupe des antiasphyxiques aérobies, dont l'action fait augmenter l'amplitude des contractions et baisser la fréquence.

A gauche, de haut en bas : —strophantine, digitaline et novocaïne. Le graphique obtenu avec perfusion de novocaïne montre une image typique de lavage : après arrêt du cœur sous l'action de la perfusion de novocaïne à 1 : 2 000, la perfusion avec la seule solution de Ringer détermine l'image caractéristique de toutes les substances asphyxiques aérobies. A droite, de haut en bas : — largactil, hexaméthonium, d-tubocurarine.

Fig. 3. — Déterminations des potentiels redox, effectuées sur les muscles striés *in vivo* (cobaye sans narcose). Les asphyxiques aérobies, à savoir : la prostigmine et le dinitrophénol-2-4 rendent négatif le potentiel redox. Les antiasphyxiques aérobies : l'atropine, la d-tubocurarine, le flaxédyle, le pyramidon et la codéine rendent positif le potentiel redox.

Fig. 4. — Determinations de potentiel redox dans les muscles striés pendant l'anesthésie, chez l'Homme. L aligne de zéro indique le potentiel de la semi-cellule de référence (semi-cellule de calomel avec solution saturée de KCl ayant $E = 0{,}244$ V pour 20°C, par rapport à la semi-cellule de référence standard qui est la semi-cellule d'hydrogène avec $E_0 = 0{,}000$V). Pour toutes les courbes, la ligne verticale indique le début de l'intervention chirurgicale et la première flèche en bas, la fin de cette intervention.

BIBLIOGRAFIE

1. COTĂESCU I., GAVRILESCU S., DEUTSCH G, *Biochimia excitației, inhibiției și parabiozei*, Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt., **II**, *1—4*, 45 (1955).
2. COTĂESCU I., DEUTSCH G., *Acțiunea Ringer-ului asupra respirației țisulare și a legăturilor macroergice fosfatice*, Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt., **III**, *1—2*, 101 (1956).
3. COTĂESCU I., BALINT A., *Acțiunea curarei asupra bilanțului energetic în musculatura striată*, Inst. medicină, Timișoara, Studii și cercet. șt., 169 (1956).
4. COTĂESCU I., MIHĂILESCU M., *Prevenirea tetanusului experimental prin doze necurarizante de d-tubocurarină*, Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt., **IV**, *3—4*, 31 (1957).
5. COTĂESCU I., *Acțiunea curarei*, Timișoara medicală, **I**, *5—6*, 525 (1956).

6. COTĂESCU I., DEUTSCH G., VLAD L., HOPÎRTEANU M., *Acțiunea substanțelor cu nucleu steranic asupra metabolismului țesular.* Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt. med., **V**, *1*, 29 (1958).
7. COTĂESCU I. *Despre mecanismul metabolic al proceselor fiziologice*, Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt. med., **V**, *1*, 57 (1958).
8. COTĂESCU I., DEUTSCH G., VLAD L., HOPÎRTEANU M., *Date experimentale cu privire la mecanismul metabolic al narcobiozei.* Timișoara medicală, **II**, *2*, 231 (1957).
9. COTĂESCU I., *Über den allgemein-biologischen Aspekt der normalen und pathologischen physiologischen Prozesse und der Pharmakodinamik*, Ztschr. f. die ges. Innere Medizin, nota I, **12**, *5*, 221 ; nota II, *6*, 258 (1957).
10. COTĂESCU I., SILVEANU R. A., *Über die Entstehungsursachen und die Deutung der bioelektrischen Potentiale*, Ztschr. f. die ges. Innere Medizin, **13**, *3*, 90 (1958).
11. COTĂESCU I., COTĂESCU E., SILVEANU R. A., *Evoluția potențialelor redox musculare în anestezie*, Acad. R.P.R., baza Timișoara, Studii și cercet. șt. med. (sub tipar).
12. COTĂESCU I., *Sur le mécanisme métabolique et nerveux du surentraînement*, Congresul al XII-lea internațional de medicină sportivă, Moscova, 1958.
13. LAPICQUE L., *Le curare. Physiologie générale et introduction à l'utilisation médicale*, La semaine des Hôpitaux, **66**, 74 (1948).
14. VASILESCU V., CINCĂ I., DROCAN J., OPROIU A., SUȚEANU S., *Date privind acțiunea curarei asupra centrului respirator.* Rev. fiziol. norm. patol., **V**, *3*, 253 (1958).

FARMACODINAMIA CURAREI ȘI A SUBSTANȚELOR CURARIZANTE

DE

GH. NICULESCU

Numele grupului și al acțiunii curarizante se datoresc curarei, substanță cunoscută de secole și utilizată de indigenii din America de Sud pentru otrăvirea săgeților.

Curara este un extract apos, provenind de la diferite liane din genurile *Strychnos* și *Chondodendron*, care cresc în America Centrală și Guyana. Se prezintă ca o masă cu aspect rășinos, neagră, amară și cu miros rău. Nu ne oprim asupra compoziției chimice a curarei, care face obiectul altor referate. Amintim numai că această compoziție chimică a fost mult discutată și că principiile active au fost identificate de curînd, ca alcaloizi cu funcțiune amoniu-cuaternară, izolîndu-se de H. King (citat după [5]) constituentul principal, d-tubocurarină. Realizarea a fost confirmată de O. Wintersteiner și J. D. Dutcher (citat după [5]).

În ultimii ani s-au realizat, prin sinteză, substanțe cu acțiune curarizantă (flaxedil, mytolon). Această preocupare o găsim și în Uniunea Sovietică, unde s-au sintetizat curarizantele pirolazon și diplacina, substanțe studiate de M. Maskovski [9], [10]. Nu ne oprim nici asupra curarizantelor de sinteză, neintrînd în preocupările referatului nostru.

ABSORBȚIE – METABOLISM – ELIMINARE

Curara nu se absoarbe prin pielea intactă. S-a experimentat pe pești cu pielea intactă, puși mai multe zile în apă care conține curara; ei nu prezintă nici un fenomen de intoxicație. Dacă însă unuia din acești pești i se face o zgîrietură pe piele, el moare în scurt timp.

Administrată per os, de asemenea nu este activă. S-au dat diferite interpretări acestui fenomen. Unii au arătat că sucul gastric ar diminua toxicitatea curarei, alții că otrava ar fi inactivată în intestin. M. Niko-

l a e v [11] pune fenomenul în legătură cu eliminarea care se face rapid prin rinichi. El leagă vasele renale sau extirpă rinichii la cobai și observă imediat apariția fenomenelor de intoxicație.

Injectată subcutanat sau intramuscular, curara se absoarbe repede și este repartizată egal în țesuturi. Se credea că nu intră în hematii și nici nu se leagă de proteinele plasmatice *). V. M. K a r a s i k și A. M. P e t r u n k i n a (citat după [13]) au dovedit că *in vitro* curara se leagă de albuminele din creier, însă numai după tratarea lor cu o substanță alcalină.

Experiențele au dovedit că 60% din curara este distrusă în organism, fără să se cunoască organul în care ea este metabolizată. Unele cercetări au arătat că la animalele nefrectomizate și hepatectomizate, fenomenele de paralizie sînt de foarte lungă durată. Aceasta probează că rinichiul și ficatul degradează curara.

Eliminarea se face mai ales prin rinichi. Dacă la un animal se leagă vasele renale, toxicitatea curarei este mai accentuată. D. F. M a r s h și W. K a l o w (citat după [5]) au arătat că foarte mici cantități trec la foetus prin placentă.

În ceea ce privește farmacodinamia curarei și a curarizantelor, se pot defini trei epoci distincte din punctul de vedere al concepției și al interpretărilor : înainte de C l a u d e B e r n a r d , realizările lui Claude Bernard și cercetările mai recente.

Înainte de Claude Bernard, fiziologii W i r c h o w și M u n t e r (citat după [3]) prezintă curara ca o otravă care produce paralizia mușchilor voluntari, nu și a celor nesupuși voinței (cord, intestin) și influențează categoric funcțiunile creierului, deci cu acțiune centrală.

Claude Bernard, la jumătatea secolului trecut, după experiențele bine cunoscute, ajunge la concluzia că după curarizare nervul și mușchiul nu sînt atinse, acțiunea fiind limitată la terminațiile nervoase intramusculare.

Cercetările mai recente. Concluziile lui Claude Bernard au rămas certe și actuale, dar trebuia lămurit mecanismul de acțiune al curarei și al substanțelor curarizante. S-au emis două teorii : fizică și chimică.

A. Teoria fizică. Lapicque susține că în fenomenul de excitabilitate a unui țesut interesează doi factori : intensitatea curentului, care corespunde noțiunii de reobază și durata de trecere a curentului, care corespunde noțiunii de cronaxie. Pentru ca o contracție să se producă, trebuie ca durata minimă a curentului să fie dublă reobazei. Pentru ca la un influx nervos să urmeze o contracție musculară, trebuie să fie un izocronism între nerv și mușchi. Dacă cronaxia nervoasă se depărtează de cea musculară prea mult, pornind de la un prag mușchiul nu se mai contractă.

După această ipoteză, curarizantele dublează sau triplează cronaxia musculară față de cea a nervului și acestui fenomen îi urmează paralizia.

B. *Teoria chimică.* Pentru a urmări sistematic interpretarea chimică în mecanismul de acțiune a curarizantelor, trebuie să plecăm de la

*) Cercetări recente au arătat că o bună parte (aproape 1/2) se leagă.

punctul interesat, adică de la placa motrice. Aceasta este stația intermediară, stația de legătură între nerv și mușchi.

S-a discutat mult rolul acetilcolinei în acest fenomen și în ultimii ani s-a ajuns la o interpretare admisă de majoritatea cercetătorilor. S-a dovedit experimental că atunci cînd se introduce acetilcolină la nivelul plăcii motrice, se produc fenomene analoage cu excitarea nervului. Acest fapt dovedit permite concluzia că atunci cînd influxul nervos ajunge la terminația nervului motor, în placa motrice se produce o descărcare de acetilcolină. Pentru ca fenomenul de contracție musculară să se producă în mod normal, trebuie ca acetilcolina formată să fie într-o cantitate echilibrată, care variază în limite foarte strînse. Dacă influxul nervos nu poate declanșa producerea de acetilcolină necesară, contracția mușchiului nu poate fi realizată. Dacă dimpotrivă, acetilcolina este produsă în exces, contracția este întreruptă prin depolarizarea mușchiului.

Acetilcolina produsă în momentul excitației la nivelul plăcii motrice este repede hidrolizată de colinesterazele care se găsesc la acest nivel. O carență enzimatică dă un efect de contracție puternică la început, prin exces de acetilcolină, care apoi întrerupe contracția.

Se pare că potasiul are un rol în producerea și acțiunea acetilcolinei.

M. J. Dallemagne (citat după [1]) rezumă fazele procesului de transmisie astfel :

1. Nervul este stimulat și o undă de depolarizare îl parcurge pînă la terminație.

2. Placa motrice este depolarizată și aceticolina apare, jucînd un rol esențial în transmitere.

3. Mușchiul traduce depolarizarea plăcii motrice printr-o undă de contracție.

4. Acetilcolina este hidrolizată și transformată în colină puțin activă, sistemul : nerv — placă motrice — mușchi devine din acel moment susceptibil de a fi locul unei noi unde de depolarizare și contracție.

Este probabil că în cursul acestor faze curenții de acțiune înregistrați corespund unui transport de electroni în sistemul neuro-muscular.

Plecînd de la aceste date, să vedem ce se întîmplă în fenomenul de curarizare.

Sub acțiunea curarei sau a unei substanțe curarizante, mușchiul rămîne excitabil la stimuli electrici direct pe mușchi sau la aplicarea de bariu sau potasiu, dar nu mai este excitabil prin nerv.

Curara intră în competiție cu acetilcolina la nivelul plăcii motrice, ridică pragul la acetilcolină, deci eliberarea ei normală la stimulul nervos nu mai este eficace. Depolarizarea este împiedicată și astfel nu se mai ajunge la pragul necesar pentru determinarea contracției musculare.

Proba inversă este făcută cu substanțe anticolinesterazice care, mărind cantitatea de acetilcolină, inversează competiția în favoarea ei, permițîndu-i activitatea.

Deci, fenomenul de curarizare este explicat prin inhibarea fenomenului colinergic, mecanismul de acțiune fiind deplasarea acetilcolinei prin competiție.

Ipoteza aceasta a fost controlată experimental foarte riguros: s-a aplicat curara pe placa motrice a unei miofibrile izolate sub control microscopic și s-a constatat că celula musculară devine insensibilă la excitarea nervului sau la acțiunea acetilcolinei aplicate local, deși la acțiunea potasiului și a excitației electrice directe ea rămîne sensibilă.

Mecanismul a fost mai evident la măsurători moderne ale potențialului electric de membrană la placa motrice.

În fața celor două teorii — fizică și chimică — care urmăresc să lămurească mecanismul de producere a unor fenomene enunțate de Claude Bernard acum un veac, sîntem tentați să reproducem — ca și J. Cheymol [3] — cele spuse de Minz în 1947 și anume: „Ni s-ar părea arbitrar să opunem o teorie strict fizică unei teorii integral chimice, pentru a interpreta aceleași manifestări de activitate nervoasă. Procesele fizice sînt susceptibile să provoace liberare de corpi chimici. Acești corpi, pe de altă parte, sînt capabili să modifice sau să creeze potențialul de acțiune și să influențeze cronaxia și permeabilitatea țesuturilor. Aceste două moduri de reacție se antrenează adeseori în așa fel, încît pare cîteodată imposibil de a preciza în ce moment începe acțiunea chimică și în ce moment declină acțiunea fizică. Cele două procese constituie deci probabil un tot foarte complex, traducînd două aspecte ale uneia și aceleiași funcțiuni".

În afară de curara și produsele similare de sinteză, există substanțe care au unele analogii cu ele, acționînd însă prin alt mecanism.

Acestea, lucrînd ca acetilcolina, produc o depolarizare care depășește placa motrice și atinge mușchiul, întrerupînd transmiterea între placa motrice și mușchi.

Asemenea substanțe sînt iodura de decametoniu și succinilcolina. Iodura de decametoniu ajută acțiunea acetilcolinei, mai ales prin faptul că, fiind stabilă, nu este inhibată de colinesteraze. Acțiunea succinilcolinei este mai scurtă, substanța fiind ușor hidrolizată de aceste enzime.

Preocupările cercetătorilor nu s-au limitat numai la acțiunea aceasta periferică a curarei și a curarizantelor. În ultimele două decenii s-au întreprins cercetări și pentru studiul acțiunii pe întregul organism. Vom expune succint realizările mai importante.

ACȚIUNEA ASUPRA SISTEMULUI NERVOS CENTRAL

Am văzut că înainte de Claude Bernard se punea mult accent pe acțiunea centrală a curarei.

B. B. Brodie (citat după [5]) afirmă această acțiune, însă lucrează cu o curara nepurificată și prezintă experiențe pe care nu se poate conta.

A. Ruskin, E. P. Pick și K. Unna (citat după [3]) nu găsesc modificări produse de tubocurarină la electroencefalograme.

G. Feitelberg și K. Unna (citat după [3]) găsesc cu doze mai mari, la broască, o diminuare în producerea căldurii cerebrale.

Tot G. Feitelberg (citat după [14]) a arătat prin electroencefalograme depresiuni ale activității cerebrale.

F. Priscott și C. L. Smith, T. H. Chang (citat după [14]) nu confirmă aceste afirmații și spun că dacă se evită orice cauză de anoxemie, encefalogramele după curara sînt normale.

E. Zunz [16] semnalează că injectarea curarei în ventriculul al IV-lea sau în măduva spinării, la cîine, mărește în 20—30 min reflexele. La broască, aplicată pe măduva spinării, curara produce convulsiuni.

E. P. Pick și K. Unna (citat după [3]) constată, tot cu doze mai mari, suprimarea potențialelor electrice cerebrale.

S. M. Smith (citat după [3]) arată că doze destul de mari de tubocurarină nu produc modificări ale electroencefalogramelor, nici tulburări senzoriale ale centrului respirator și ale celui vasomotor.

R. Hazard și colaboratori [6] cercetînd acțiunea centrală a unor curarizante de sinteză cu lanț median piperazinic, ajung la concluzia că acestea potențializează acțiunea hipnotică a barbituricelor. Aceiași autori, găsesc mai tîrziu o acțiune depresivă centrală cu alte substanțe curarizante de sinteză.

V. Vasilescu și colaboratori [14] studiază acțiunea curarei asupra centrului respirator, prin metoda „capului izolat" instituită de academician G. Benetato. Prin această metodă, separîndu-se complet circulația cefalică de aceea a trunchiului, se asigură irigarea creierului animalului primitor prin circulația carotido-jugulară a celui donator. Prin această metodă se exclude posibilitatea unei acțiuni periferice. Autorii ajung la concluziile următoare: curara are acțiune inhibitoare asupra centrului respirator, pe care îl scoate din funcțiune cu doze care depășesc dozele paralizante. Bioxidul de carbon și adrenalina sînt antagoniști ai curarei.

M. Constantinov și colaboratori [4], făcînd cercetări privitoare la acțiunea curarei asupra centrilor vasomotori, ajung la concluzia că sub acțiunea curarei se produce o diminuare a reflexelor vasomotoare, prin depresiunea centrilor vasomotori. La acest nivel curara acționează antagonist cu bioxidul de carbon și adrenalina. Dat fiind că adrenalina și bioxidul de carbon lucrează asupra celulelor din substanța reticulată, curara acționează asupra acelorași centri.

V. Vasilescu [15] a continuat, împreună cu V. Miulescu și M. Gardev, cercetările privitoare la acțiunea curarei asupra centrilor nervoși, tot prin metoda „capului izolat", perfuzat cu sînge de la congener sau perfuzat artificial. Autorii au prezentat la al 21-lea Congres internațional de fiziologie de la Buenos-Aires (1959) și la sesiunea științifică a Institutului medico-farmaceutic (1959) următoarele concluzii:

1. În condițiile perfuziei artificiale a „capului izolat", tubocurarina scade nivelul funcțional al centrilor vasomotori, fenomen exteriorizat prin scăderea tensiunii în corpul animalului și a reflectivității vasomotorii.

2. În condițiile perfuziei artificiale a „capului izolat", dozele mari de tubocurarină scot din funcție centrul respirator.

3. Reactivitatea centrului vomei la apomorfină nu este influențată de tubocurarină.

ACȚIUNEA ASUPRA GANGLIONILOR VEGETATIVI

I. N. Langley (citat după [5]) a semnalat acțiunea paralizantă a curarei pentru ganglionii autonomi, acțiune precedată de o scurtă fază de excitare, deci fenomen nicotinic. S-a observat că, după blocare, celulele ganglionare răspund la potasiu, dar nu mai răspund mult timp la excitarea firelor preganglionare sau la injecția de acetilcolină.

W. D. M. Paton (citat după [5]) a precizat că mecanismul de acțiune a curarei în blocarea ganglionilor este tot prin competiție cu acetilcolina, ca la placa motrice. Curara crește pragul față de acetilcolină, care se eliberează în mod normal la excitarea fibrei preganglionare. Doza de curara necesară blocării ganglionilor vegetativi este însă mai mare decît la placa motrice.

A. C. Guyton (citat după [5]) a arătat că există o diferență între sensibilitatea diferiților ganglioni la curara. Astfel, ganglionii ciliari și vagali sînt mai sensibili decît cei ortosimpatici, ai pupilei, inimii și vaselor splanchnice.

Privind în comparație fenomenul nicotinic și curarizant, pentru placa motrice și ganglionii vegetativi, s-a observat că nicotina este mai specifică pentru ganglioni, iar curara pentru placa motrice.

ACȚIUNEA ASUPRA HISTAMINEI

M. Alam (citat după [5]) a fost primul care a dovedit experimental că după curara se produce o eliberare de histamină. El injectează curara în artera piciorului de broască și colectează sîngele din vena aceluiași picior, perfuzat. Găsește histamină foarte puțină în mușchiul perfuzat și o găsește trecută în sîngele venos colectat. R. D. Dripps (citat după [5]) a arătat că tubocurarina injectată intradermic și intraarterial produce fenomene histaminice.

La om s-au semnalat urticarii.

În toate manifestările histaminice produse de curara, antihistaminicele sînt active. Unii cercetători au recomandat chiar administrarea de antihistaminice înainte de curara, pentru evitarea fenomenelor histaminice eventuale.

ACȚIUNEA ASUPRA APARATULUI CARDIO-VASCULAR

În experiențe pe animal s-a dovedit că răspunsul cardiac la stimularea vagului scade prin curara.

Curara mărește cronaxia miocardului de broască și produce tulburări de conductibilitate. Se pare că otrava acționează pe musculatura auriculelor, ventriculelor și pe fascicolul lui Hiss.

La animal, pe preparat cord-pulmon, curara administrată lent nu dă tulburări. La fel, pe inima izolată de iepure, chiar dacă se folosesc doze mari.

Administrarea de doze terapeutice nu produce modificări ale pulsului, presiunii arteriale și nici ale electrocardiogramei.

Injectarea de tubocurarină, făcută repede, intravenos, dă hipotensiune arterială și vasodilatație periferică. Acestea sînt explicate fie prin hipoxia secundară, fie prin scăderea întoarcerii venoase către inimă, fie prin eliberarea bruscă de histamină, ca fenomen produs de curara.

ACȚIUNEA ASUPRA APARATULUI RESPIRATOR

Experiențele pe inel izolat de bronhie au arătat că tubocurarina produce spasm. Acest bronho-spasm a fost semnalat și la om. De asemenea, curara mărește și secreția bronhică.

Atît fenomenele de spasm, cît și cele de hipersecreție au fost atribuite tot acțiunii histamino-mimetice a curarei.

ACȚIUNEA ASUPRA APARATULUI DIGESTIV

S-au semnalat rar hipersecreția salivară, creșterea cantității și a aciditații sucului gastric, fenomene care ar fi tot histaminice.

Dozele mari scad motilitatea și tonusul în tractul tubului digestiv.

ACȚIUNEA ASUPRA APARATULUI URINAR

Dozele mari scad motilitatea și tonusul musculaturii vezicii urinare.

ANTAGONIȘTI AI CURAREI

S-a constatat că eserina și prostigmina suprimă acțiunea curarei asupra transmisiei neuromusculare, prin acțiune anticolinesterazică.

Adrenalina, efedrina, guanina îi reduc numai acțiunea, deci sînt decurarizante parțiale.

În cercetările asupra sistemului nervos central, V. Vasilescu găsește că bioxidul de carbon și adrenalina sînt antagoniști ai curarei [4], [14].

I. R. Petrov (citat după [8]) a probat efectul anticurarizant al roșului de Congo. Cercetări de confirmare pentru roșul de Congo și experiențe cu albastru de tripan au fost făcute de V. M. Karasik și A. M. Petrunkina (citat după [8], [13]) și de V. M. Karasik și Lihacev (citat după [8]).

V. B. Isacenko [8] cercetează antagonismul roșului de Congo cu noi preparate curarizante, realizate în Uniunea Sovietică.

Am prezentat schematic farmacodinamia curarei și a substanțelor curarizante.

Dacă în trecut studiul acestor substanțe prezenta un interes pur științific, astăzi, cînd ele au intrat cu rol important în arsenalul terapeutic, cercetările sînt strîns legate de practică.

Cu cît farmacodinamia curarizantelor va fi mai precis pusă la punct, cu atît utilizarea terapeutică va putea fi făcută mai rațional, mai îndrăzneț și la adăpost de orice accident.

Facultatea de farmacie,
Catedra de farmacodinamie,
București

ФАРМАКОДИНАМИКА КУРАРЕ И КУРАРЕПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА

РЕЗЮМЕ

В работе представлены последние исследования по всасыванию, обмену и выделению курареподобных веществ.

Подробно излагается химическая теория, касающаяся механизма действия кураре и курареподобных веществ.

Приведены данные, доказывающие, что курареподобные вещества действуют не только на нервно-мышечную систему, но и на организм в целом. Так, например, показано их действие на центральную нервную систему, на вегетативные ганглии, на сердечно-сосудистый, дыхательный, пищеварительный и мочевой аппараты.

LA PHARMACODYNAMIE DU CURARE ET DES SUBSTANCES CURARISANTES

RÉSUMÉ

On présente les derniers essais concernant l'absorption, le métabolisme et l'élimination des substances curarisantes.

On expose amplement la théorie chimique concernant le mécanisme de l'action du curare et celui des substances curarisantes.

On expose des données qui démontrent que les substances curarisantes n'agissent pas seulement sur le système neuromusculaire mais également sur l'organisme tout entier. Ainsi, on montre leur action sur le système nerveux central, sur les ganglions végétatifs, sur l'appareil cardiovasculaire ainsi que sur les appareils respiratoire, digestif et urinaire.

BIBLIOGRAFIE

1. BACQ M. Z. și colaboratori, *Pharmacodynamie biochimique*. Masson, Paris, 1954, 133—141; 179 — 187.
2. BÎKOV M. K. și colaboratori, *Manual de fiziologie*, Trad. Ed. Stat, 1950.
3. CHEYMOL J., *Actualités pharmacologiques. Première série*. Masson, Paris, 1949, 1—52.
4. CONSTANTINOV M. și colaboratori, Spitalul, *3*, 261 (1958).
5. GOODMAN L., GILMAN A., *The pharmacological basis of therapeutics*. Ed. a II-a, 1955, 596.
6. HAZARD R. și colaboratori, *Thérapie*. **9**, *3*, 314 (1954).
7. HAZARD R. și colaboratori, *Thérapie*. **11**, *4*, 684 (1956).
8. ИСАЧЕНКО В. Б. Фармакология и токсикология, *5*, 30—32 (1953).
9. МАСКОВСКИ М., Брискин А. М., *Клиническая мед.*, 1953.
10. МАСКОВСКИ М., Природа, *10*, 104—106 (1953).
11. NIKOLAEV M., *Bazele experimentale ale farmacologiei și toxicologiei*. Trad. Inst. rom.-sov., 31—34.
12. PALLADIN V. A., *Manual de chimie biologică*. Trad. Ed. Stat, 1949.
13. SKVORTOV I. V., *Manual de farmacologie*. Trad. Ed. Stat, 1951, 111—115.
14. VASILESCU V. și colaboratori, Rev. de fiziol. norm. și patol., *3*, 253 (1958).
15. VASILESCU V. și colaboratori, A 5-a sesiune științifică I.M.F., Bul, 1959, 44.
16. ZUNZ EDG., *Eléments de Pharmacodynamie spéciale*. Masson, Paris. 1932, **I**, 282—288.

UTILIZAREA SUBSTANȚELOR RELAXANTE ÎN NEUROLOGIE

DE

V. VOICULESCU, J. UNGHER și N. MISON-CRIGHEL

Tratamentul stărilor hipertonice și hiperkinetice reprezintă una din problemele cele mai importante ale terapeuticii neurologice. Etiologia acestor tulburări este complexă, iar mecanismele fiziopatologice care stau la baza lor nu au fost complet elucidate. Interpretarea clasică a lui J. H. Jackson [8] invocînd „eliberarea" etajelor inferioare ale nevraxului după scoaterea din funcțiune a etajelor suprajacente, este admisă de majoritatea autorilor. Greutatea apare în momentul cînd se abordează explicarea fiziologică a noțiunii de eliberare. Unii cercetători asimilează eliberarea centrilor lipsiți de conexiunile lor cu etajele superioare cu ceea ce W. B. Cannon [5] a numit hipersensibilitatea organului denervat. E vorba de o hipersensibilitate la substanțele vehiculate de sînge, ca de pildă la adrenalină, acetilcolină. Recent G. P. Mc Couch și colaboratori [10] au dat o interpretare interesantă hiperfuncțiunii motoneuronului periferic, după secțiunea căilor care sosesc la acest neuron de la etajele superioare. După acest autor, degenerarea butonilor sinaptici care transmit neuronului periferic impulsurile neuronilor motori centrali este urmată de o proliferare a fibrelor radiculare posterioare, cu apariția de numeroase sinapse noi ale acestor fibre cu neuronul motor periferic. Aceste sinapse iau locul celor degenerate. Ele explică, după Mc Couch, exagerarea reflexelor și hipertonia consecutivă leziunilor transverse ale măduvei. Dacă explicația hipertoniilor din leziunile spinale e relativ simplă, hipertonia și hiperkinezia din leziunile centrale ridică probleme deosebit de complexe, în ultimă instanță admițîndu-se o eliberare a porțiunii facilitatoare a formației reticulate.

Unele rezultate obținute în tratamentul stărilor hipertonice prin relaxanți au deschis un domeniu important de aplicare a acestor medicamente în domeniul neurologiei.

Indicaţiile relaxanţilor în neurologie sînt :

1. Paraplegiile spastice după mielite, scleroză în plăci, scleroză laterală amiotrofică, traumatisme vertebro-medulare. După medicaţia curarizantă, bolnavul are sentimentul plăcut al unei relaxări musculare. Mişcările active şi pasive se execută cu mai multă uşurinţă. Mişcările involuntare se reduc, ca şi contracturile reflexe în poziţia vicioasă, permiţînd o fizioterapie activă.

2. În encefalopatiile infantile, la bolnavi cu cvadriplegii spastice cu contractură, incoordonare şi dizartrie, medicaţia curarizantă permite o reducere apreciabilă a tuturor acestor tulburări. Relaxarea musculară permite o reeducare motorie a bolnavului. La encefalopaţi cu distonie şi coreoatetoză, unii autori obţin o reducere a mişcărilor involuntare, cu ameliorare a masticaţiei şi deglutiţiei, a vorbirii, a scrisului.

Introducerea de către L. von Meduna [11] a convulsoterapiei în psihiatrie a reprezentat o adevărată revoluţie a tratamentului bolilor mintale. Recentele progrese în domeniul psihofarmacologiei au restrîns desigur indicaţiile convulsoterapiei, dar nu au reuşit s-o înlocuiască cu totul. Electroşocul rămîne şi azi, într-o serie de cazuri rezistente, unica terapeutică eficace. Cu toată eficacitatea ei impresionantă, metoda are şi o serie de dezavantaje, reprezentate în primul rînd prin numărul relativ mare de fracturi şi luxaţii consecutive violentelor contracturi musculare. Apariţia electroşocului, folosit pentru prima dată de U. Cerletti şi L. Bini [6], a diminuat frecvenţa acestor accidente traumatice, dar nu a reuşit să le suprime total. Numeroşi autori apreciază la 4% proporţia fracturilor determinate de electroşoc. A interveni cu un medicament care să reducă sau să facă să dispară în special faza tonică a accesului reprezintă un adjuvant important în convulsoterapie.

A. E. Bennett [3] publică cel dintîi rezultatele convulsoterapiei sub curarizare. Acest autor [4] a prezentat o statistică de 25 000 electroşocuri, cu un singur caz mortal. Curarizarea nu suprimă efectul terapeutic al convulsoterapiei. Electroencefalograma înregistrată în cursul electroşocului nu este modificată prin curarizare. În schimb, curarizarea reduce în mod remarcabil frecvenţa fracturilor şi a accidentelor pulmonare. Creşterea tensiunii arteriale care însoţeşte electroşocul este mult diminuată prin excluderea contracţiei musculare. Introducerea curarizării a permis extinderea indicaţiilor convulsoterapiei la o serie de bolnavi la care pînă atunci fragilitatea osoasă reprezenta o contraindicaţie absolută.

Ca substanţe curarizante s-au folosit la început intocostrina, tubocurarina, precum şi curarizante de sinteză de tipul flaxedilului. Actualmente se utilizează aproape exclusiv succinilcolina, indicată prin intensitatea şi scurtimea duratei curarizării pe care o produce.

Imediat după electroşoc se aplică respiraţia controlată cu ajutorul unui aparat în circuit închis. Indicaţiile curarizării în electroşoc sînt : fragilitatea osteo-articulară, fracturi recente sau sub aparat gipsat, osteoporoza senilă, spondilartroză anchilozantă, hernii discale, luxaţii recidivate ; cazurile în care electroşocul determină mialgii sau lombalgii intolerabile ; la bolnavi cu hernii cu tendinţă de strangulare şi la tuberculoşi pulmonari cronici, expuşi să facă un puseu evolutiv după electroşocul

simplu. Întrebuințarea succinilcolinei a permis aplicarea electroșocului la bolnavi cardio-vasculari și chiar la cei cu simptome de insuficiență coronariană. Succinilcolina are, pe lîngă avantajul de a da un efect curarizant foarte scurt, și pe acela de a suprima efectele histaminice ale electroșocului, efecte pe care celelalte substanțe curarizante le accentuează.

Curarizarea cu respirație artificială a fost întrebuințată în cîteva cazuri de turbare. J. T h i o d e t și colaboratori [13] au reușit să mențină bolnavul în viață timp de 11 zile, pe cînd M. B a l ș [2] și colaboratori nu au observat vreo modificare a evoluției bolii.

J. D e l a y și T h u i l l i e r [7] au aplicat „infracurarizarea" pe cale rectală într-o serie de afecțiuni neurologice și psihice. Ameliorările cele mai evidente sînt constatate în encefalopatiile infantile cu spasticitate. În cazu i de coree Huntington, a căror rezistență la orice terapeutică este cunoscută, semnalează o ușoară reducere a mișcărilor involuntare, cu ameliorarea mersului și a capacității funcționale a membrelor superioare. În boala lui Parkinson, ameliorarea rigidității și aceea a tremurăturii sînt mai discutabile.

În psihiatrie, „infracurarizarea" pe cale rectală determină o relaxare musculară care la rîndul ei duce la o scădere a tensiunii nervoase, a emotivității și a anxietății. Rezultate clinice favorabile au fost obținute cu această metodă în nevroze anxioase, nevroze obsesionale, isterie. În unele stări de agitație psiho-motorie la epileptici, maniaci etc., infracurarizarea s-a dovedit un adjuvant util al celorlalte metode terapeutice.

În ultimul timp s-a realizat un mare număr de preparate de tipul curarei, unele de origine vegetală (preparatele D3 și K), altele sintetice, cum sînt flaxedilul, pirolaxonul și diplacinul.

Cercetătorii sovietici au acordat o atenție deosebită acțiunii acestor preparate (pirolaxonul și diplacinul) asupra sistemului nervos central. S-a stabilit că, în doze adecvate, aceste preparate măresc tonusul funcțional al scoarței și micșorează concomitent excitabilitatea centrilor subcorticali. Preparatele au fost administrate în hipertoniile piramidale, cît și în cele extrapiramidale, la parkinsonienii postencefalitici. Rezultate clinice favorabile au fost obținute cu preparatul K de către N. A. K r î ș o v a, M. A. J i l i n s k a i a, K. M. K o v a l e n k o v și E. A. B î c e n k o v a [9]. S-a obținut o scădere accentuată a tonusului muscular, o suprimare sau diminuare a hiperkineziilor, scăderea tremurăturilor și a salivației. La bolnavii hipertensivi s-a observat o scădere importantă a tensiunii arteriale. După tratament, dispoziția generală a bolnavilor s-a ameliorat, ca și capacitatea lor de muncă. Acțiunea favorabilă a tratamentului s-a menținut timp de cîteva luni. Această acțiune nu se datorește, după N. A. K r î ș o v a și colaboratori, acțiunii mioparalitice a preparatului, ci efectului său asupra sistemului nervos central.

Mai mult decît curarizantele propriu-zise îl interesează pe neurolog acele relaxante care exercită și o acțiune asupra sistemului nervos central. Aici intră substanțele relaxante ca mianezina, miocaina, zoxazolamina. Ele își exercită efectul în special asupra măduvei și substanței reticulate, acționînd cu predilecție asupra circuitelor multisinaptice.

Deși diferite din punctul de vedere al activității farmacodinamice, prin efectul lor decontracturant aceste medicamente au o serie de indicații similare cu acelea ale curarizantelor. Mianezina (cresoxipropandiol) este însă din ce în ce mai puțin întrebuințată azi, din cauza acțiunii sale trombozante asupra venelor în care este injectată, precum și a efectului hemolitic. Administrată bucal, determină o anestezie locală a mucoasei faringee, expunînd pe bolnavi la bronhopneumonie de deglutiție. Miocaina (glicerol-eter al guaiacolului), un preparat al Institutului de cercetări chimice farmaceutice al M.S.P.S., are o acțiune hemolitică de 4 ori mai slabă decît a mianezinei, iar leziunile vasculare pe care le produce sînt mai discrete.

Acest medicament, injectat intravenos în doză mare (0,2—0,4 g/kg corp), produce o relaxare completă a animalului, fără a-i tulbura respirația. Experiențele făcute de J. Ungher, V. Voiculescu, V. Neștianu, R. Broșteanu și I. Stoica [14] au arătat că el are și o acțiune anticonvulsivantă. Injectarea lui face să nu mai apară nici fenomenele motorii, nici cele vegetative, caracteristice accesului convulsiv. Studiul electroencefalografic pe pisici a arătat că miocaina singură nu determină alterări ale traseului, ci dimpotrivă o ușoară regularizare, în cazul unei disritmii. În caz de aplicare a electrașocului la animalul miocainizat nu se observă descărcări epileptice pe traseul electroencefalografic, spre deosebire de animalul curarizat. Aceasta arată că efectul anticonvulsiv al miocainei nu se datorește întreruperii impulsurilor epileptice la nivelul transmiterii neuro-musculare, ci faptului că are un efect central.

Pentru lămurirea mecanismului de acțiune al miocainei N. Mison-Crighel [12] a făcut o serie de determinări biochimice în creier. S-a determinat fosfocreatina, acidul piruvic, acidul lactic. De asemenea s-a studiat histochimic și biochimic activitatea fosfatazei alcaline în substanța cerebrală de către E. Appel, Th. Horneț, N. Mison-Crighel și J. Ungher [1].

Cercetările au fost făcute pe șobolani și iepuri de ambele sexe. Animalelor de experiență li se injecta intraperitoneal o cantitate mare de miocaină (1 ml soluție 5%/100 g corp), doză care relaxa animalul fără să-i dea tulburări respiratorii. Această doză împiedica apariția convulsiilor provocate prin curent electric sau prin agenți chimici.

După injectarea miocainei în doza arătată sau după aplicarea agentului convulsivant, șobolanii erau aruncați în întregime în azot lichid. Se determina apoi în substanța cerebrală fosfocreatina, acidul piruvic și acidul lactic. Fosfataza alcalină s-a determinat histochimic și biochimic, imediat după sacrificarea animalului. Rezultatele au fost prelucrate statistic, calculîndu-se testul *t*.

Nu s-au constatat modificări semnificative ale conținutului fosfocreatinei, acidului piruvic și acidului lactic în substanța cerebrală a șobolanilor injectați cu miocaină, iar la iepuri activitatea fosfatazei alcaline era scăzută.

La animalele cărora înainte de aplicarea agenților convulsivanți li s-a injectat miocaină, nu s-a mai produs o dereglare a metabolismului glucidic, ca la animalele nemiocainizate. De asemenea este limitată scin-

darea fosfocreatinei după cardiazol şi picrotoxină, iar după electroşoc şi piramidon, resinteza fosfocreatinei este chiar favorizată.

La animalul miocainizat căruia i s-a aplicat un electroşoc nu s-a mai constatat nici histochimic, nici biochimic, o scădere a activităţii fosfătazei alcaline, cum s-a constatat la animalele nemiocainizate.

Aceste rezultate arată că miocaina influenţează sistemul nervos central. Acţiunea anticonvulsivantă a acestei substanţe s-ar putea explica prin modificarea funcţiunii neuronilor intercalari. Efectul ei blocant s-ar exercita asupra impulsurilor care traversează circuitele multisinaptice, provocînd un blocaj al circuitelor reverberante multineuronale.

*

Această scurtă trecere în revistă a aplicărilor substanţelor relaxante în bolile sistemului nervos arată existenţa unui mare număr de indicaţii, dintre care cea mai evidentă este în convulsoterapia bolilor psihice.

Cu toate progresele realizate în ultimii ani, terapia relaxantă prezintă o serie de inconveniente. Medicaţia curarizantă propriu-zisă, bazată pe interceptarea propagării influxului de la nerv la muşchi, determină, o dată cu scăderea mişcărilor involuntare şi a hipertoniei şi o deprimare a motilităţii voluntare. Este de dorit ca pragul curarizant pentru latura respiratorie să fie cît mai depărtat de pragul curarizant al restului musculaturii striate. Pentru găsirea substanţelor relaxante celor mai eficace, este necesar să se studieze, alături de acţiunea asupra joncţiunii mioneuronale şi acţiunea asupra sistemului nervos central. Trebuie de asemenea să se ţină seama că nu poate exista un singur mecanism de acţiune al curarizantelor deoarece joncţiunea mioneuronală nu se poate compara cu sinapsele neuronale, iar acestea din urmă prezintă o diversitate funcţională şi structurală care nu poate fi neglijată.

Pentru rezolvarea acestor probleme e necesară o colaborare cît mai strînsă între chimia de sinteză, biochimie, neuro-fiziologie şi clinica neurologică.

Institutul de neurologie „I. P. Pavlov"
al Academiei R.P.R., Bucureşti

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕЛАКСАНТОВ В НЕВРОЛОГИИ

РЕЗЮМЕ

В работе даются указания относительно применения релаксантов веществ при различных нервных заболеваниях. Обсуждается механизм действия различных курареподобных и общерасслабляющих веществ. Показано, что современные синтетические релаксанты действуют в особенности на спинной мозг и на сетевидное вещество, оказывая влияние преимущественно на многосинаптические цепи.

Несмотря на наблюдаемый за последние годы прогресс, при применении в терапии релаксантов, встречается ряд затруднений, требующих комплексного изучения известных и синтеза новых релаксантов.

UTILISATION DES SUBSTANCES RELAXANTES EN NEUROLOGIE

RÉSUMÉ

On expose les indications des substances relaxantes dans les différentes affections neurologiques. On discute le mécanisme de l'action des différentes substances curarisantes et relaxantes en général, en montrant que les substances relaxantes modernes de synthèse agissent surtout sur la moelle et sur la substance réticulée, en influençant surtout les circuits plurisynaptiques.

Malgré les progrès que la thérapeutique par des substances relaxantes a enregistrés pendant les dernières années, il y a encore une série d'inconvénients dans leur application, exigeant une étude complexe des relaxants connus, ainsi qu'une étude concernant la synthèse d'autres produits relaxants.

BIBLIOGRAFIE

1. APPEL E., HORNET TH., MISON-CRIGHEL N., UNGHER J., Studii şi cercetări neurol., **II**, *4*, 505 (1957).
2. BALS M., CĂRUNTU F., ROMAN A., PANCA M., TOFAN N., Presse Méd., 65/36, 853 (1957).
3. BENNETT A. E., American J. Med. Science, **202**, 102 (1941).
4. — J. Nerv. a. Ment. Dis., **98**, 23 (1943).
5. CANNON W. B., *The Wisdom of the body*, Norton W. W., New York, 1932.
6. CERLETTI U., BINI L., Bull. Academia Med. Roma, **64** 136 (1938).
7. DELAY J., THUILLIER, Therapia, *2*, 109 (1950).
8. JACKSON J. H., *Selected Writings of John Hughlings Jackson*, James Taylor, Hodder and Stoughton London, 1931, .
9. KRÎSOVA N. A., JILINSKAIA M. A., KOVALENKOV K. M., BÎCENKOVA E. A., An. rom. sov., Med. generală, *4*, 128 (1952).
10. MC COUCH G. P., AUSTIN G. M., LIU C. M., LIU C.Y., J. of Neurophysiol., **XXI**, *3*, 205 (1958).
11. MEDUNA L. (von), Psychiatr.-neur. Wschr., 317 (1935).
12. MISON-CRIGHEL N., Studii şi cercetări neurol., **II**, *3*, 361 (1957).
13. THIODET J., FOURIER A., MASSONET J., NEIDHART H., SAID D., Algérie Med., 60/12, 1033 (1956).
14. UNGHER J., VOICULESCU V., NEŞTIANU V., BROŞTEANU R., STOICA I., Neurol. psih. neurochir., *1*, 43 (1956).

UTILIZAREA RELAXANTELOR ÎN ANESTEZIOLOGIE

DE

G. LITARCZEK, S. HALEVY, R. SIMIONESCU şi I. CRISTEA

Anestezia generală modernă nu a putut face un salt calitativ serios spre a dobîndi caracterul de metodă anocivă, decît în urma introducerii în practica curentă a drogurilor relaxante.

Înainte de apariţia acestor substanţe, narcoza produsă de un singur agent sau cu o asociaţie de agenţi nu putea obţine liniştea şi relaxarea necesară intervenţiilor decît prin adîncirea gradului de anestezie, adică printr-o intoxicaţie mai mult sau mai puţin profundă a organismului bolnavului. De asemenea impulsurile pornite de la zonele reflexogene toracice sau abdominale nu puteau fi stăvilite complet decît tot prin adîncirea narcozei sau, mai recent, prin infiltrarea acestor zone cu anestezic local. Introducerea substanţelor relaxante şi în primul rînd a d-tubocurarinei în practica curentă a permis modificarea radicală a concepţiei despre anestezia generală. De unde în trecut erau înglobate sub acest termen toate noţiunile ce se refereau la componentele parţiale ale narcozei, azi admitem că aceasta poate fi construită din elemente farmacodinamice diferite, alcătuind un tot armonios, adaptat întotdeauna la cazul dat. Elementele de bază ale acestui tot sînt hipnoza, analgezia şi relaxarea. Avem la îndemînă droguri cu ajutorul cărora putem grada fiecare din aceste elemente, în funcţie de necesitatea intervenţiei.

Relaxarea, element de bază al acestui tot, poate fi obţinută cu o gamă vastă de droguri ce se adresează unor puncte foarte diverse ale sistemului complex ce asigură comanda tonusului şi a motricităţii musculare. Astfel, substanţele cele mai variate, cu acţiune pe nucleii căilor extrapiramidale, pe neuronii de asociaţie medulari sau pe joncţiunea neuromusculară, pot produce relaxarea. Cele mai eficace şi totodată cele mai utilizate sînt însă, fără îndoială, acestea din urmă. Datorită lor, anestezia a putut deveni din metodă şocogenă o metodă care permite, în grade diferite, prevenirea şocului operator şi aceasta prin două mecanisme : în primul rînd, datorită reducerii mari a necesităţii de anestezic şi, pe de altă

parte, prin efectele neuro-vegetative ale unora dintre relaxante, cum sînt cele cu acțiune competitivă sau pahicurarele.

În țara noastră, introducerea relaxantelor a mers în pas cu dezvoltarea anesteziologiei ca specialitate medicală de sine stătătoare. Primele curarizări s-au efectuat în anul 1952 și de atunci numărul lor a crescut rapid în toate centrele în care s-au introdus metodele noi de anestezie. Recunoașterea de către M.S.P.S. a specialității de anestezist, ca și înființarea cursurilor de specializare au contribuit în cea mai largă măsură și la răspîndirea utilizării relaxantelor, fără de care azi, practic, nu putem concepe aproape nici o tehnică de narcoză.

În cele ce urmează vom căuta să expunem pe scurt experiența noastră cu substanțele relaxante în perioada 1952—1959 inclusiv (8 ani), experiență cîștigată în clinica chirurgicală a spitalului Colțea, sub conducerea academicianului profesor dr. Nicolae Hortolomei.

În acest timp am totalizat un număr de 2125 cazuri în care s-au utilizat substanțe relaxante. Ținînd seama de faptul că mult timp clinica a funcționat cu un singur anestezist, ca și de rezerva firească întîlnită în introducerea metodelor noi de anestezie generală, această cifră nu poate expune decît parțial importanța pe care au cîștigat-o în ultima vreme aceste droguri.

Între cazurile pe care le prezentăm nu se va găsi menționat un număr de accidente care însă, în majoritatea lor nu țin de drogurile utilizate, ci sînt o consecință firească a autodidactismului nostru în această direcție.

Am utilizat atît droguri din clasa depolarizantelor, ca succinilcolina, decametoniul sau oxidipentoniul, ca și din clasa celor cu acțiune competitivă, ca d-tubocurarina, galamina sau din cele cu bloc dual, ca imbretilul, sau cu bloc mixt ca anetocurara.

d-TUBOCURARINA

Este prima substanță relaxantă introdusă în anesteziologie. Cu toate acestea, ea este încă una din cele mai bune și mai sigure. Este o pahicurară, acționînd prin antagonizarea acetilcolinei la nivelul plăcii neuro-musculare. Am utilizat-o fie sub formă de intocostrină, în 5 cazuri, fie sub formă de substanță pulbere dizolvată extemporaneu, în 12 cazuri, iar în 589 cazuri am utilizat soluția de clorură de d-tubocurarină stabilizată, în fiole de 15 mg. Cazurile au variat ca vîrstă între 2—28 ani. 27,2% dintre operații au fost toracice, 70,8% abdominale și 1,90% extratoracoabdominale. Am utilizat în 356 cazuri (58,8%) asociația dintre d-tubocurarină și flaxedil (galamina). De obicei am administrat 15 mg d-tubocurarină cu 40—100 mg galamină.

În ceea ce privește analgezia și hipnoza, în 22,8% din cazuri am utilizat eterul, în 74,8% barbituric asociat cu protoxid de azot și în 1,3% din cazuri alte anestezice ca viadril (hidroxidion) sau ciclopropan. La asociația cu eter am renunțat atît din considerente teoretice, cît și în urma observațiilor clinice, eterul fiind un depolarizant, spre deosebire de d-tubocurarină care este un anti-depolarizant. Asociația barbituric cu

protoxid de azot este teoretic cea mai logică, deoarece completează în mod fericit triunghiul hipnoză-analgezie-relaxare.

Antagoniștii curarei (prostigmina, sintostigmina, neueserina) au fost utilizați în 93 cazuri (15,3%). Am utilizat aceste droguri ori de cîte ori am constatat la sfîrșitul operației o ventilație insuficientă.

În concluzie, experiența ne arată că d-tubocurarina este un relaxant excelent, sigur și care satisface cerințele anesteziei moderne.

FLAXEDILUL SAU TRIIODOETILATUL DE GALAMINĂ

Este unul din relaxantele de sinteză antiacetilcolinice cu utilizare foarte largă. Are aproape toate caracterele principale ale d-tubocurarinei, cu singura deosebire că nu produce liberare de histamină ca d-tubocurarina și are o perioadă de acțiune mai scurtă. Am utilizat galamina ca relaxant principal la un număr de 414 intervenții, dintre care 215 operații toracice (52,2%), 199 operații abdominale (47%) și 12 operații extratoracoabdominale (0,8%). Dozele utilizate atît inițial pentru intubație, cît și pentru menținere, variază între 10—160 mg (medie 72,3) pentru inducție și 20—160 mg (medie 102,3) pentru menținere.

Dintre anestezice eterul ocupă primul loc, cu 313 cazuri (75,8%). Asociația cu galamină a unei analgezii și hipnoze cu eter duce de cele mai multe ori la realizarea unei anestezii corecte, cu evoluție favorabilă. În 97 cazuri (23,47%) s-a utilizat asociația cu barbituric, protoxid de azot sau ciclopropan, neadministrîndu-se de loc eter. Numai în 3 cazuri (0,73%) s-a administrat tricloretilenă. Din cauza acțiunii sale de scurtă durată, nu am fost nevoiți să utilizăm antagoniști decît în 3 cazuri (0,73%). De asemenea, nu am avut de semnalat apnee peste 30 min decît în 40 cazuri (9,68%) și unde a fost intenționat realizată.

DECAMETONIUL (C_{10})

Decametoniul (C_{10}) sau iodura sau bromura de decametilen-bis-trimetilamoniu este o leptocurară tipică, cu acțiune foarte puternică. Reinjectările de drog trebuie să fie foarte parcimonioase, din cauza faptului că decametoniul duce la o epuizare a plăcii neuro-musculare prin depolarizare prelungită. Am utilizat decametoniul pe un număr de 475 cazuri. Dintre produse am utilizat substanța sintetizată la Catedra de farmacologie, I.M.F., București, care este o bromură, decacuranul — tot o bromură, precum și procuran care este o iodură. Substanțele au fost utilizate la un număr de 99 cazuri toracice (21,04%), 352 cazuri abdominale (74%) și 24 cazuri extratoracoabdominale (5,06%). Ca anestezic principal a fost utilizat eterul în 368 cazuri (77,5%). În restul de 107 cazuri (22,5%) au fost utilizate barbiturice, protoxid de azot sau ciclopropan. Dozele utilizate de noi au fost între 1,5—10 mg (medie 4,56) pentru doza inițială și 1,5—16 mg (medie 6,04) pentru doza totală în caz de reinjectare.

În concluzie, decametoniul este un relaxant de valoare, care cu toate că prezintă unele dezavantaje, poate fi utilizat pe scară largă în condițiile amintite, cînd conferă condiții bune intraoperatorii și o securitate aproape completă.

SUCCINILCOLINA

Este o leptocurară tip, a cărei acțiune depolarizantă are expresia clinică cea mai pregnantă în fibrilațiile musculare care apar în timpul instalării curarizării. Acțiunea de scurtă durată a acestui relaxant, ca și faptul că este distrus în sînge de pseudocolinesterază, sînt caracterele principale ale drogului. Condițiile de relaxare realizate sînt optime, ca și condițiile pentru intubația traheală. Statistica noastră cuprinde un număr de 220 cazuri în care s-a administrat succinilcolina (myorelaxin). Dintre acestea, 96 au fost operații toracice (43,6%), 84 abdominale (38,2%) și 40 extratoracoabdominale (18,2%). Ca relaxante asociate am utilizat în 22 cazuri galamina, în 20 d-tubocurarina-galamina, în 5 cazuri d-tubocurarina, într-un caz imbretilul și în 3 cazuri mediatonal. În total s-au asociat relaxante în 51 cazuri (23,2%).

Ca anestezic principal a fost utilizat eterul în 113 cazuri (52,7%), hidroxidionul (pressuren sau viadril) în 27 cazuri (12,25%), barbituric cu protoxid de azot sau ciclopropan în 53 cazuri (24,1%), fluotanul în 19 cazuri (8,65%) și trilenul în 5 cazuri (2,30%). În afară de cazurile amintite mai sus, mai trebuie citate și 24 angiocardiografii și 14 bronhoscopii executate în apnee de succinilcolină și anestezie cu barbituric.

În concluzie, succinilcolina sub formă de iodură sau clorură a devenit azi un relaxant indispensabil în arsenalul terapeutic al anestezistului.

BREVATONAL-MEDIATONAL

Brevatonalul sau oxidipentoniul este un relaxant din grupa leptocurarelor; durata de acțiune a dozei apneizante (8—10 mg) este situată între aceea a succinilcolinei și aceea a galaminei (10—20 min). Acțiunea acestui relaxant este foarte mult potențată (300%) de către mediatonal: mediatonalul sau anetocurara este un relaxant care ocupă din punctul de vedere al structurii, ca și din acela al acțiunii, un loc de mijloc între pahi- și leptocurare. Potențează puternic acțiunea celorlalte pahi- sau leptocurare.

Ca și brevatonalul, nici mediatonalul nu are antagonist.

Asociația dintre mediatonal și brevatonal sau altă leptocurară permite ca, pe fondul unei relaxări moderate date de mediatonal, să se grefeze faze de curarizare profundă, cu stop respirator sau nu, după necesitate. Experiența noastră comportă un număr de 273 cazuri, dintre care 2 cazuri de utilizare a brevatonalului singur și 5 cazuri de utilizare a mediatonalului singur; pe restul de cazuri a fost utilizată asociația brevatonal-mediatonal. Despărțind injectarea mediatonalului de aceea a brevato-

nalului, am obținut o scurtare a perioadei de apnee. Asociația brevatonal-mediatonal a fost utilizată în 1,74% din cazuri la operații toracice, în 84,7% abdominale și în 13,56% pe operații extratoracoabdominale.

Asociația brevatonal-mediatonal nu constituie o necesitate în arsenalul terapeutic al anestezistului modern, iar utilizarea ei cere o bună cunoaștere a farmacodinamiei mai deosebite a acestor droguri.

IMBRETILUL

Imbretilul sau bromura de hexametilen-1,6-bis-carbominoilcolină este un relaxant cu calități deosebite. Acțiunea sa, dezvoltată în timp, arată la început o activitate de tip depolarizant, urmată de o fază lungă de activitate curarimetică (antiacetilcolinică). Noi am utilizat imbretilul în clinică de 112 ori. Indicația majoră a fost dată de cazuri la care prevedeam necesitatea unei relaxări prelungite. Dintre aceste operații, 86 (76,6%) au fost toracice, în special cardiace și 26 (23,4%) abdominale. Pentru operații în afara acestei sfere credem că imbretilul nu are indicații. Dozele inițiale de relaxant utilizate au variat între 3 și 10 mg, cu o medie de 6,2 mg. Reinjectări am făcut în doze variabile, în general 2—4 mg, mai ales la operațiile prelungite. Ca anestezic principal am utilizat eterul în 16 cazuri (14,3%), însă l-am părăsit curînd, dat fiind că am observat atît depresiuni respiratorii prelungite, cît mai ales depresiuni circulatorii grave și greu de redresat. În 37 cazuri (33%) am utilizat asociația barbituric-protoxid de azot, iar în 57 cazuri (52,7%) am utilizat hidroxidionul-protoxid de azot suplimentat sau nu cu mici doze de barbituric.

În concluzie, considerăm că imbretilul este un relaxant foarte bun, care mînuit cu discernămînt aduce avantaje importante în munca anestezistului.

ETERII GUAIACOL— ȘI CREZOL-GLICERINICI

Eterul glicerinic al crezolului este cunoscut și sub denumirile de mianesin, relaxil etc. Este un relaxant prin acțiunea asupra neuronilor de asociație medulari. Nu potențează acțiunea anestezicelor, astfel că nu duce decît la o economie relativă a acestora și nici nu poate crea condiții pentru executarea intubației traheale. Drogul a fost abandonat, întrucît s-au observat accidente hemolitice după injectarea unor cantități mai mari. În locul său s-a introdus eterul glicerinic al guaiacolului (My 301).

Am utilizat aceste droguri într-un număr limitat de cazuri, întrucît am considerat că nu pot fi de ajutor în cursul anesteziei moderne, fiind cu totul depășite de celelalte relaxante. Toate intervențiile au fost abdominale.

În concluzie, considerăm că din cele două droguri prezentate, numai al doilea ar putea prezenta un interes oarecare, în special în centrele în care nu s-a ajuns încă la o aplicare largă a altor relaxante.

*

Experiența noastră, ca și datele din literatură, arată că în practica curentă există necesitatea utilizării a cel puțin două droguri relaxante,

unul cu acţiune competitivă, celălalt cu acţiune depolarizantă şi de scurtă durată. Produsele care ne par a fi cele mai corespunzătoare sînt d-tubocurarina şi succinilcolina în primul rînd şi galamina şi decametoniul în al doilea rînd. Celelalte preparate pe care le-am încercat au calităţi care le limitează în parte utilizarea.

d-Tubocurarina sau un preparat sintetic similar, cum ar fi de exemplu laudolisina, trebuie să constituie relaxantul de bază, cu durată de acţiune lungă şi efecte vegetative evidente.

Succinilcolina trebuie să existe întotdeauna în arsenalul medicamentos al anestezistului, fiind fără îndoială substanţa cu durata cea mai scurtă de acţiune şi deci cu maniabilitatea cea mai mare.

Cuplul galamină-decametoniu este mai puţin valoros, atît prin efectele sialogene şi de insuficientă relaxare glotică ale galaminei, cît şi prin fenomenele de decurarizare atipică ce pot apărea cu decametoniu. Cu toate că aceste produse ar putea fi mai uşor sintetizate, credem că ar trebui să se dea preferinţă primelor două (d-tubocurarina sau un derivat analog şi succinilcolina).

Cu toate că preparatele pe care le avem azi la îndemînă ne sînt strict indispensabile, ele sînt încă departe de a atinge perfecţiunea.

Pentru anesteziologie, preparatul ideal ar trebui de fapt să întrunească calităţile d-tubocurarinei şi ale succinilcolinei, eliminîndu-le efectele mai puţin favorabile. Astfel, preparatul ar trebui să lucreze competitiv, să aibă deci şi antagonist şi să împiedice epuizarea fibrei musculare pe care o provoacă substanţele depolarizante, să aibă acţiune de scurtă durată, avînd deci un maximum de maniabilitate, să nu provoace contracţii de depolarizare ca succinilcolina şi să aibă acţiune histamino liberatoare minimă. Un astfel de preparat, suficient de puternic pentru a nu cere administrarea unei cantităţi prea mari în timp, ar trebui să fie complet lipsit de toxicitate, iar produsele lui de sciziune să fie neutre, permiţînd astfel o administrare prelungită la ore, zile şi chiar săptămîni.

De asemenea, o calitate de dorit ar fi ca produsul să fie miscibil cu majoritatea drogurilor utilizate în anestezie, dar în special cu barbituricele intravenoase.

Munca reunită a fiziologilor, farmacologilor şi biochimiştilor va trebui să găsească în acest domeniu preparate care să se apropie cît mai mult şi în cît mai multe puncte de preparatul ideal.

Clinica chirurgicală F.P.S.M.F.,
Secţia de anestezie, Bucureşti

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАССЛАБЛЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В АНЕСТЕЗИОЛОГИИ

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты, полученные в 2125 случаях, в которых проводился наркоз с применением расслабляющих (кураре-подобных) веществ.

Были использованы медикаменты класса деполяризирующих веществ, как, например, сукцинилхолин, декаметоний или оксидипентоний, а также класса веществ, обладающих конкурентным действием, как, например, *d*-тубокурарин, галамин или вещества с двойной блокадой, как имбретил или смешанной блокадой, как анетокураре.

Полученные данные показывают, что на практике необходимо применять хотя бы два расслабляющих медикамента, один с конкурентным и другой с кратковременным деполяризирующим действием. По-видимому, наиболее подходящими являются *d*-тубокурарин и сукцинилхолин.

UTILISATION DES SUBSTANCES RELAXANTES EN ANESTHÉSIOLOGIE

RÉSUMÉ

On présente les résultats obtenus dans 2 125 cas où l'on a appliqué la narcose en utilisant des substances relaxantes (curarisantes).

On a utilisé des drogues de la classe des dépolarisants, telles que la succinylcholine, le décaméthonium ou l'oxydipentonium, ainsi que des drogues de la classe caracterisée par l'action compétitive, telles que la d-tubocurarine, la galamine, et enfin des drogues avec bloc «dual», telles que l'imbréthyle, ou avec bloc mixte, telles que l'antécurare.

Les données obtenues montrent que dans la pratique courante il faut au moins deux drogues relaxantes, l'une à action compétitive, l'autre ayant une action dépolarisante et de courte durée. Les produits qui paraissent être les plus indiqués à ce point de vue sont la d-tubocurarine et la succinylcholine.

STUDIU ASUPRA DOZĂRII FLAXEDILULUI *)

DE

P. SPACU și ELENA ANTONESCU

Sărurile de amoniu cuaternar și-au asigurat încă din deceniul trecut un loc important ca substanțe dezinfectante. Acești compuși sînt de un interes deosebit deoarece, în afară de proprietățile lor detergente, prezintă o serie de proprietăți germicide și antiseptice, fapt pentru care au fost studiați în ultimul timp în ceea ce privește proprietățile și metodele lor de sinteză.

S-a constatat încă de mult că prezența în molecula unei substanțe organice a grupării funcționale de amoniu cuaternar aduce după sine apariția unei acțiuni curarizante. Chiar sărurile simple de tetraalchilamoniu prezintă această acțiune curarizantă, fapt observat pentru prima oară la iodura de tetrametilamoniu : $[(CH_3)_4N]^+I^-$.

În această serie s-a constatat că acțiunea curarizantă este maximă în cazul acestui compus (considerată 100), scade la derivații cu grupe etil sau propil, pentru a crește din nou în cazul compușilor ce conțin grupe $-C_6H_{11}$ sau $-C_8H_{17}$. Cea mai slabă activitate curarizantă o au sărurile de tetraetilamoniu.

Cercetările mai noi au stabilit că nu numai structura moleculei, ci și numărul de grupări de amoniu cuaternar, precum și poziția lor pot influența tăria acțiunii curarizante. S-a observat că o puternică acțiune curarizantă apare la substanțele ce conțin în moleculă cel puțin două grupe de amoniu cuaternar, așezate astfel încît distanța dintre cei doi atomi de azot să fie de 13—15 Å.

Această distanță interatomică optimă se găsește în produsul natural d-tubocurarina, izolată din curara de tub, a cărei structură a fost complet elucidată, d-tubocurarina conținînd două grupe de azot cuaternar.

Pornind de la structura atribuită d-tubocurarinei, D. Bovet și colaboratori [1] au sintetizat o serie de substanțe cu acțiune curarizantă, cu structură apropiată sau mai simplă decît a d-tubocurarinei.

---

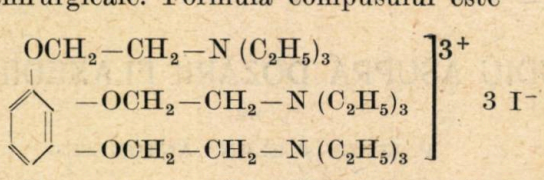
*) Articolul constituie o sinteză a studiilor publicate în revista „Studii și cercetări de chimie", nr. 3 din 1959 și nr. 1 din 1960.

Cercetînd seria eterilor colaminei de tipul

$$[R-OCH_2-CH_2N(C_2H_5)_3]\ ^+X^-,$$

în care R provine dintr-un fenol sau un polifenol, activitatea maximă a fost găsită la flaxedil, care este de trei ori mai slab decît d-tubocurarina.

Flaxedilul sau galamina : triiodura de 1,2,3 tris-(2-trietil-amoniu-etoxi)-benzen poate înlocui d-tubocurarina în utilizările sale, producînd un efect rapid. Flaxedilul este lipsit de efecte secundare nedorite, ceea ce a determinat utilizarea sa în clinică pentru a produce relaxarea musculară în intervenţiile chirurgicale. Formula compusului este



Dată fiind utilizarea largă a flaxedilului şi numărul redus de metode de dozare [2], [3], [4], [5], [6], [7], am efectuat un studiu analitic asupra acestui produs, pentru elaborarea unor metode cît mai rapide şi precise care să permită determinarea lui în cantităţi cît mai mici. Studiul a fost făcut asupra fiolelor de flaxedil tip Specia. Urmărind să găsim o metodă cît mai bună, am utilizat în cazul flaxedilului o serie de combinaţii complexe, ca : acidul silicowolframic, ferocianura de potasiu, nitroprusiatul de sodiu, tetraiodomercuriatul de potasiu, sarea lui Reinecke, precum şi o sare complexă de crom cu formula $K_3\,[Cr\,(SCN)_6]_4\,H_2O$.

Din încercările calitative făcute am constatat că acidul silicowolframic formează în mediu acid un precipitat gelatinos ce nu se pretează la determinări gravimetrice, nitroprusiatul de sodiu nu precipită de loc, iar în ceea ce priveşte ferocianura de potasiu, precipitatul format prezintă o oarecare solubilitate în apă. Cu $K_2\,[HgI_4]$ am făcut încercări cantitative, însă rezultatele obţinute au fost întotdeauna în minus, din cauza solubilizării precipitatului de către electroliţii ce rezultă din reacţie.

Rezultate cantitative foarte bune am obţinut cu

$$NH_4\,[Cr\,(SCN)_4NH_3)_2]\ \text{şi}\ K_3\,[Cr\,(SCN)_6],$$

cu care flaxedilul formează compuşi greu solubili.

Prin analiză s-a determinat că formulele celor două substanţe complexe sînt

$$[Cr\,(SCN)_4\,(NH_3)_2]_3\,(C_{30}H_{60}O_3N_3)\ \text{şi}$$

$$[Cr\,(SCN)_6]\,(C_{30}H_{60}O_3N_3)$$

Cum ambele substanţe sînt foarte stabile, foarte greu solubile şi au o greutate moleculară mare, am stabilit condiţiile pentru metode macro- şi microgravimetrice, utilizînd ca reactivi sarea lui Reinecke şi $K_3\,[Cr\,(SCN)_6]$.

În cazul compusului format cu sarea lui Reinecke s-a stabilit şi o metodă spectrofotometrică de dozare.

I. METODE MACRO- ŞI MICROGRAVIMETRICE PENTRU DOZAREA FLAXEDILULUI

1. Reactiv K_3 [Cr (SCN)$_6$] $4H_2O$

Modul de lucru este acelaşi atît pentru macrometodă cît şi pentru micrometodă, cu rezerva că în cazul micrometodei trebuie lucrat în vase Emich, iar probele se iau la microbiuretă.

Modul de lucru. Soluţia ce conţine flaxedil, acidulată cu 1—2 ml HCl (d = 1,19) iar în cazul micrometodei cu 1—2 picături, se tratează cu o soluţie concentrată de K_3 [Cr (SCN)$_6$] pînă ce soluţia de deasupra precipitatului devine violetă. Se agită bine şi se filtrează după 5 min, în creuzet cu masă filtrantă A_2 sau A_3. Spălarea se face cu apă, pînă ce într-o porţiune din filtrat nu mai precipită ionul de clor. Se usucă la etuvă la 120°C. Factorul de transformare este egal cu 0,9784.

Date fiind uşurinţa cu care se obţine reactivul, sensibilitatea reacţiei şi rezultatele exacte obţinute prin această metodă, se recomandă utilizarea ei, cu toată valoarea ridicată a factorului.

Rezultatele pentru macrometodă sînt trecute în tabela 1, iar pentru micrometodă în tabela 2.

Tabela 1

Flaxedil luat în analiză g	[Cr (SCN)$_6$] flaxedil cîntărit g	Flaxedil găsit g	Diferenţa mg
0,02855	0,0292	0,02857	+0,02
0,02906	0,0297	0,02906	—
0,05933	0,0606	0,05929	−0,03
0,01407	0,0144	0,01409	+0,02
0,02881	0,0295	0,02886	+0,05
0,04460	0,0456	0,04461	+0,01
0,02342	0,0239	0,02338	−0,04
0,02828	0,0289	0,02828	—
0,03287	0,0336	0,03287	—
0,03791	0,0388	0,03796	+0,05
0,01878	0,0192	0,01879	+0,01
0,02342	0,0239	0,02339	−0,03
0,03052	0,0312	0,03052	—
0,03522	0,0360	0,03522	—
0,03756	0,0384	0,03757	+0,01
0,03991	0,0408	0,03992	+0,01
0,04696	0,0480	0,04696	—

Obs. Complexul [Cr (SCN)$_6$] ($C_{30}H_{60}O_3N_3$) este insolubil în acizi diluaţi şi în solvenţi organici, astfel încît metoda nu a putut fi extinsă la determinări fizico-chimice.

Tabela 2

Cantitatea de flaxedil luată g	[Cr (SCN)$_6$] flaxedil cîntărit g	Cantitatea de flaxedil găsită g	Diferența mg
			—
0,000591	0,000605	0,000591	−0,016
0,001004	0,001010	0,000988	+0,024
0,000591	0,000628	0,000615	−0,012
0,000886	0,000893	0,000874	−0,013
0,000354	0,000349	0,000341	−0,002
0,000945	0,000964	0,000643	−0,010
0,001182	0,001198	0,001172	+0,022
0,001596	0,001654	0,001618	−0,031
0,001418	0,001418	0,001387	+0,018
0,001477	0,001529	0,001495	

2. Reactiv NH_4 [Cr (SCN)$_4$ (NH_3)$_2$]

Ca și în cazul reactivului K_3 [Cr (SCN)$_6$], există un singur procedeu atît pentru metoda macrogravimetrică, cît și pentru metoda microgravimetrică.

Modul de lucru. Soluția ce conține flaxedil, acidulată cu acid acetic diluat, se tratează cu o soluție 1% de NH_4 [Cr (SCN)$_4$ (NH_3)$_2$] pînă ce soluția de deasupra precipitatului se colorează puternic în roșu. Se încălzește la circa 70°C, pentru aglomerarea precipitatului, apoi se răcește la gheață. După răcire, se filtrează precipitatul printr-un creuzet cu masă filtrantă A_2 sau A_3, se spală cu apă pînă ce soluția trece incoloră și se usucă la etuvă la 110°C. Factorul de transformare este egal cu 0,6081.

Rezultatele obținute pentru macrometodă sînt trecute în tabela 3, iar pentru micrometodă în tabela 4.

Tabela 3

Flaxedil luat în analiză g	Reineckiat de flaxedil cîntărit g	Flaxedil găsit g	Diferența mg
0,02340	0,0385	0,02342	+0,02
0,02818	0,0464	0,02821	+0,03
0,03287	0,0540	0,03284	−0,03
0,03690	0,0607	0,03691	+0,01
0,01102	0,0182	0,01107	+0,05
0,01253	0,0205	0,01247	+0,06
0,01368	0,0225	0,01368	—
0,04711	0,0776	0,04719	+0,08
0,03485	0,0573	0,03484	−0,01
0,02669	0,0439	0,02670	+0,01
0,01481	0,0243	0,01478	−0,03
0,01897	0,0312	0,01897	—
0,02323	0,0382	0,02323	—

Tabela 4

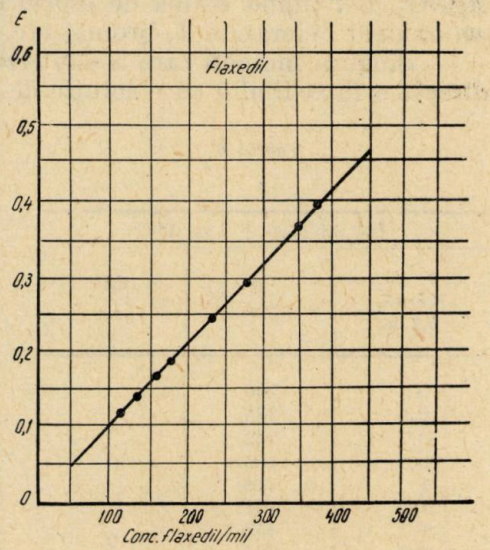
Flaxedil luat în analiză g	Reineckiat de flaxedil cîntărit g	Flaxedil găsit g	Diferența mg
0,000830	0,001365	0,000830	—
0,001172	0,001939	0,001179	+0,001
0,000220	0,000352	0,000214	+0,006
0,001213	0,001994	0,001212	−0,001
0,000297	0,000478	0,000290	−0,007
0,000871	0,001430	0,000869	−0,002
0,000661	0,001086	0,000660	−0,001
0,001616	0,002658	0,001616	—

Datorită solubilității compusului cu sarea lui Reinecke în acetonă, metoda descrisă mai sus a fost extinsă și la determinarea spectrofotometrică a flaxedilului.

II. METODA SPECTROFOTOMETRICĂ

Modul de lucru. Soluția ce conține flaxedil, acidulată cu 0,5 —1 ml acid acetic diluat, este precipitată cu o soluție 1% de $NH_4[Cr(SCN)_4(NH_3)_2]$, pînă ce soluția de deasupra precipitatului se colorează puternic în roșu. Se filtrează, se spală precipitatul cu apă și se trage puțin la trompa de vid, pentru a se usca cît mai bine. Se dizolvă precipitatul în acetonă, direct în creuzet, iar soluțiile de acetonă se trec în baloane cotate de 25 la 50 ml, care se aduc la semn cu acetonă.

Măsurătorile s-au efectuat cu un spectrofotometru Pulfrich. Deoarece maximul curbei de adsorbție este la 533 m μ, măsurătorile au fost făcute utilizînd filtrul galben al spectrofotometrului. Trasînd curba extincțiilor în funcție de concentrație s-a obținut o dreaptă, ceea ce arată că în acest caz se verifică legea lui Lambert-Beer (v. figura). Determinările au fost făcute la temperatura camerei. S-au folosit cuve acoperite de 5 cm, iar ca mediu optic vid, acetonă proaspăt distilată. Făcînd citirile după un interval de 24 ore, pentru aceeași soluție, nu s-a constatat nici o variație a extincției.



Variațiile extincției în funcție de concentrația flaxedilului.

În tabela 5 sînt trecute cîteva din determinările efectuate, erorile încadrîndu-se în limitele erorilor aparatului cu care s-a lucrat.

Tabela 5

Flaxedil luat mg	Extincţia citită	Flaxedil găsit mg	Eroare %
0,1370	0,134	0,1379	0,07
0,1632	0,156	0,1621	0,67
0,1904	0,174	0,1900	0,21
0,1102	0,109	0,1107	0,45
0,2487	0,225	0,2490	0,16
0,2736	0,266	0,2730	0,21
0,2950	0,270	0,2965	0,30
0,3792	0,364	0,3797	0,19
0,4640	0,443	0,4640	—

III. METODA POTENŢIOMETRICĂ

Pentru găsirea unei metode potenţiometrice de dozare a flaxedilului, am făcut o serie de încercări, fie utilizînd un exces de $K_3[Cr(SCN)_6]$ pentru precipitarea flaxedilului şi titrînd excesul de $K_3[Cr(SCN)_6]$ cu $AgNO_3$, fie, ţinînd seama de faptul că flaxedilul este o iodură, utilizînd un oxidant : cloramin T, bromat etc.

Singura metodă care a dat rezultate bune a fost aceea de oxidare directă a flaxedilului cu o soluţie de $KBrO_3-KBr$.

Tabela 6

I

100 ml H_2O + 7 ml HCl		
v ml $KBrO_3$ 0,1 n	E milivolţi	$\frac{dE}{dV}$
0	200	
0,5	385	
0,7	392	
0,9	406	
1	418	
1,1	431	
1,2	453	310
1,3	484	400 max
1,4	524	280
1,5	552	
1,6	567	
1,7	678	

Găsit : 1,3428 ml — 0,04113 gg
Calculat : 1,3429 ml — 0,04115 g flaxedil

Tabela 7

II

100 ml H_2O + 7 ml HCl		
v ml $KBrO_3$ 0,1 n	E milivolţi	$\frac{dE}{dV}$
0	190	
0,5	379	
1	410	
1,1	432	
1,2	443	
1,3	480	370
1,4	532	520 max
1,5	564	320
1,6	572	
1,7	584	
1,8	594	

Găsit : 1,3429 ml — 0,04115 g
Calculat : 1,3429 ml — 0,04115 g flaxedil

Utilizînd acest oxidant, am stabilit o metodă foarte rapidă și exactă pentru dozarea flaxedilului.

Modul de lucru este extrem de simplu : probe de flaxedil conținînd între 0,03—0,05 g se diluează cu 100 ml apă și se acidulează cu 5 ml HCl (d = 1,19). Se titrează direct cu o soluție de $KBrO_3$—KBr 0,1 n, pînă cînd are loc saltul de potențial, respectiv pînă cînd întreaga cantitate de I^- din flaxedil s-a oxidat.

S-a utilizat un ionometru de tip Lautenschläger. Determinările au fost făcute la temperatura camerei, utilizînd ca electrod indicator platina, iar ca electrod de referință electrodul normal de calomel. S-a folosit o biuretă de 10 ml, divizată în 1/100. Potențialul inițial variază între 180—206 mV. La punctul de echivalență trebuie așteptat 2—3 min, agitînd puternic, pînă ce se atinge echilibrul și se stabilește potențialul.

În tabelele 6 și 7 sînt date cîteva exemple de titrare.

Centrul de cercetări chimice
al Academiei R.P.R.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЛАКСЕДИЛА

РЕЗЮМЕ

В связи с исследованием по определению флакседила, в настоящей работе даны результаты, полученные при использовании в качестве реактивов двух комплексных соединений: $[Cr(SCN)_6]K_3$ и $NH_4[Cr(SCN)_4(NH_3)_2]$. Были найдены условия для проведения двух макро- и двух микрометодов, а также для спектрофотометрического метода.

Был также разработан потенциометрический метод определения флакседила, прямым титрованием раствором $KBrO_3$— KBr.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Изменение экстинкции в зависимости от концентрации флакседила.

ÉTUDES SUR LE DOSAGE DU FLAXÉDYLE

RÉSUMÉ

Etudiant le dosage du flaxédyle, les auteurs exposent les résultats obtenus en utilisant comme réactifs deux combinaisons complexes : $[Cr(SCN)_6]K_3$ et $NH_4[Cr(SCN)_4(NH_3)_2]$. Ils ont établi les conditions devant être remplies par leurs deux macro- et leurs deux microméthodes, ainsi que les conditions d'une méthode spectroscopique.

Ils ont également institué une méthode potentiométrique pour le dosage du flaxédyle, par titrage direct avec une solution de $KBrO_3$—KBr.

EXPLICATION DES FIGURES

Variations de l'extinction en fonction de la concentration en flaxédyle.

BIBLIOGRAFIE

1. D. BOVET şi colaboratori, C. R. Ac. Sc., **223**, 597 (1946).
2. S. DORLET, C. A., 11 658 (1953).
3. C. W. BALLARD., J. ISAACS, P.G.Q. SCOTT, C.A., 7189 (1955).
4. A. ANASTASI, E. MECARELLI, L. NOVACIC, C.A., 1894 (1953).
5. B. BUDESINSKY, C.A., 14 453 (1956).
6. — C. A., 114 (1956).
7. E. GRAF, E. FIEDLER, C, 12 619 (1956).

ACȚIUNEA UNOR SĂRURI CUATERNARE DE AMONIU DERIVATE DE LA 2,7-DIAMINOFLUOREN ASUPRA ORGANISMULUI ANIMAL

DE

C. MEDEȘAN ȘI M. STOICA

Despre existența unei strînse legături între structura chimică a sărurilor cuaternare de amoniu și acțiunea lor asupra organismului animal, există numeroase indicații în literatura științifică. Astfel s-a arătat influența pe care o are atît natura, numărul și dispunerea grupărilor cuaternare din moleculă, cît și natura radicalilor prinși de aceste grupări [1], [11], [13]. Totodată, s-au mai cercetat influențele determinate de anumite grupări funcționale din restul moleculei substanțelor curarizante [2].

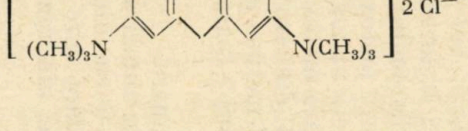
În lucrarea de față, efectuată la sugestia acad. E. Macovschi, întreprindem un studiu privitor la relațiile dintre structura chimică și acțiunea asupra organismului animal, la un număr de 8 săruri cuaternare de amoniu, sintetizate de F. Dobrescu [4] de la Institutul politehnic din Timișoara. Substanțele cercetate sînt următoarele : diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-fluoren (I) ; diclorura 2,7-bis-(trimetilamoniu)-9-benzal-fluoren (II) ; diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(orto-metoxi-benzal)-fluoren (III) ; diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(meta-metoxi-benzal)-fluoren (IV) ; diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(para-metoxi-benzal)-fluoren (V) ; diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(3′,4′-dimetoxi-benzal)-fluoren (VI) ; diclorura 2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(3′,4′-metilen-dioxi-benzal)-fluoren (VII) ; triclorura [2,7-bis-(trimetil-amoniu)-9-(para-trimetil-amoniu-benzal)]-fluoren (VIII).

Formulele acestor substanțe sînt redate în continuare.

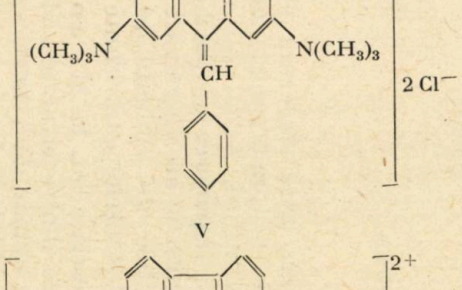
În afara clorurilor de mai sus, am cercetat, într-un număr apreciabil de experiențe și iodurile corespunzătoare. Deoarece unele din acestea prezentau o insuficientă solubilitate în ser fiziologic, fapt care ducea la dificultăți și erori în timpul determinărilor pe animale, am renunțat să le mai cercetăm.

SCHEMĂ

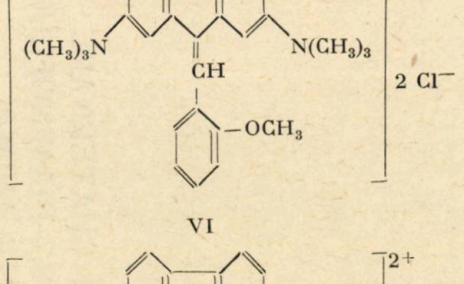
I



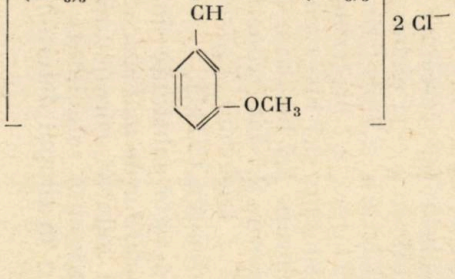
II



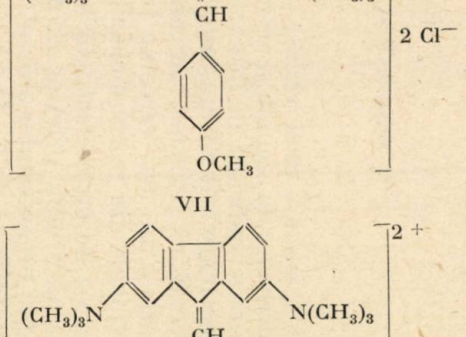
III



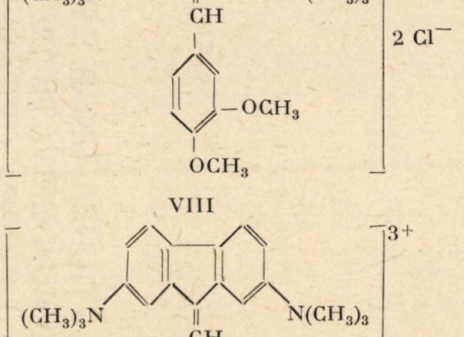
IV



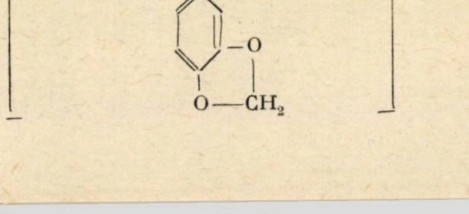
V



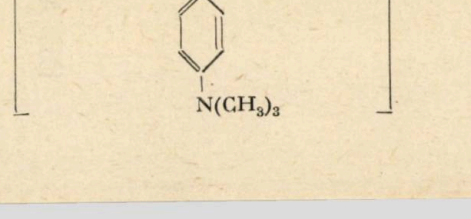
VI



VII



VIII



Toate substanțele au fost păstrate în exsicator, ferite de lumină, iar pentru cercetări s-au folosit soluții proaspete. Culoarea soluțiilor era ușor gălbuie, iar prin ședere și mai ales la lumină se intensifica.

S-a constatat pe 1 300 animale (broaște, șoareci, iepuri, cîini) că substanțele luate în studiu prezintă acțiune curarizantă puternică, unele fiind chiar mai active decît clorura de d-tubocurarină. Experiențele au fost efectuate cu ajutorul următoarelor metode :

a) suprimarea reflexului de redresare la broaște ;
b) testul „căderea capului" la iepuri (Head-drop) ;
c) toxicitatea prin injecții subcutane la șoareci (D.L. 50) ;
d) aprecierea cantitativă a diferitelor faze de intoxicație la iepuri ;
e) acțiunea antiacetilcolinică pe mușchi drept abdominal de broască ;
f) acțiunea substanțelor asupra respirației, presiunii arteriale și preparatului neuromuscular *in situ* la cîini anesteziați.

Trierea substanțelor s-a făcut cu ajutorul metodei suprimării reflexului de redresare la broască, după tehnica lui J. Cheymol și E. Corteggiani [3]. Pentru aceasta, s-a stabilit pe loturi de 15 broaște, doza minimă din fiecare substanță care, fiind injectată în sacii dorsali limfatici, determină după 20 min imposibilitatea animalelor de a se restabili în poziție normală atunci cînd erau așezate pe spate și neexcitate. Paralizia parțială trebuie să persiste în medie numai 10 min.

Cu ajutorul acestui test calitativ, s-a văzut că derivații cei mai slabi sînt (I) și (VIII), iar cei mai activi (V) și (VI).

În continuare, s-au efectuat experiențe cu ajutorul testului „căderea capului" la iepure (Head-drop). Substanțele erau dizolvate în ser fiziologic $9^0/_{00}$ și introduse în vena safenă ori în cea femorală cu ajutorul unei pompe electrice de perfuzie, construită de noi. Cantitatea minimă din fiecare substanță, care determina fenomenul de atonie a mușchilor gîtului și cefei, a fost evaluată pe cîteva animale prin determinări premergătoare, alegîndu-se concentrația soluției și viteza de perfuzie potrivite. După stabilirea acestor condiții experimentale, s-a determinat cu precizie doza de „căderea capului" prin metoda încrucișată, întrebuințîndu-se 3 iepuri pentru proba de cercetat și 3 iepuri pentru d-tubocurarină. Determinarea se repeta după 48 ore, loturile fiind inversate în raport cu produșii perfuzați [3]. În experiențele noastre, viteza de perfuzie a fost de 0,34 cm^3 pe min. Astfel am stabilit, pentru fiecare derivat, doza de „căderea capului", după cum urmează : substanțele (V), (VI), (II), (VII) și (IV) s-au dovedit a fi mai active decît clorura de d-tubocurarină de 2,3 ; 2,3 ; 1,5 ; 1,1 și 1,1 ori, iar substanțele (III), (VIII) și (I) sînt mai slabe decît d-tubocurarina în următoarele proporții : 1,2 ; 2,1 și 9,2 ori (tabela 1).

Pentru aprecierea cantitativă mai amănunțită a puterii curarizante, s-a continuat perfuzarea lentă a substanțelor la loturi de 3 iepuri, notînd următoarele faze de intoxicație progresivă : căderea capului, oprirea respirației, oprirea cordului [3]. S-au determinat apoi, prin calcul, următoarele raporturi ale dozelor pe kilocorp animal : $\frac{\text{căderea capului}}{\text{oprirea respirației}}$; $\frac{\text{căderea capului}}{\text{oprirea cordului}}$; $\frac{\text{oprirea respirației}}{\text{oprirea cordului}}$.

Tabela 1

Acțiunea derivaților de la 2,7 – diaminofluoren asupra iepurilor

Substanțele	Testul „căderea capului" **)			Apneea *)			Oprirea cordului*)			Raportul dozelor care antrenează		
	Dozele medii mg/kilocorp	Deviația standard S	Eroarea E mg/kilocorp	Dozele medii mg/kilocorp	Deviația standard S	Eroarea E mg/kilocorp	Dozele medii mg/kilocorp	Deviația standard S	Eroarea E mg/kilocorp	Căderea capului / apneea	Căderea capului / oprirea cordului	Apneea / oprirea cordului
V	0,094	0,00095	±0,003	0,161	0,034	±0,019	0,204	0,018	±0,010	0,58	0,46	0,78
VI	0,096	0,0120	±0,004	0,151	0,010	±0,005	0,220	0,023	±0,013	0,63	0,43	0,68
II	0,138	0,0050	±0,001	0,239	0,045	±0,022	0,382	0,026	±0,013	0,57	0,36	0,62
VII	0,183	0,0410	±0,018	0,287	0,023	±0,016	0,372	0,028	±0,019	0,63	0,49	0,77
IV	0,184	0,0100	±0,005	0,237	0,040	±0,023	0,299	0,044	±0,025	0,77	0,61	0,79
d-tubocurarina***)	0,214	0,0150	±0,002	0,366	0,054	±0,031	0,480	0,065	±0,037	0,58	0,44	0,76
III	0,258	0,0120	±0,005	0,407	0,030	±0,017	0,555	0,023	±0,013	0,63	0,46	0,73
VIII	0,459	0,092	±0,041	0,810	0,11	±0,06	0,85	0,17	±0,09	0,56	0,54	0,95
I	1,97	0,26	±0,10	3,68	0,32	±18	5,23	0,03	±0,01	0,53	0,37	0 70

*) S-a experimentat pe 3 animale.
**) „ „ „ 6 „
***) „ „ „ 41 „

Din tabela 1 se observă că la majoritatea derivaților studiați, aceste raporturi sînt mai mici sau egale cu cele obținute în aceleași condiții pentru clorura de d-tubocurarină. Deci, între dozele de căderea capului și cele de apnee, respectiv oprirea cordului, există pentru majoritatea substanțelor, o margine de siguranță mai avantajoasă sau egală cu a d-tubocurarinei.

Toxicitatea fiecărei sări cuaternare de amoniu a mai fost cercetată pe 3 loturi a 20 șoareci (cu o greutate de 15 —20 g), cărora li s-au injectat subcutan 3 doze diferite din substanța de cercetat, astfel alese prin tatonări anterioare încît să antreneze fiecare o mortalitate diferită de 0% și de 100%. După stabilirea raportului $\frac{\text{supraviețuitori}}{\text{total}}$ pentru fiecare lot în parte, am determinat prin calcul doza care omoară 50% din animale (valoarea medie a D.L. 50 ; limita superioară a D.L. 50 ; limita inferioară a D.L. 50). Am folosit pentru calcul tehnica probitului simplificată de prof. E. Repciuc, prin omiterea probitului corectat (după indicațiile Laboratorului de control biologic al medicamentelor, Institutul chimico-farmaceutic).

Din tabela 2 se observă că gradul de toxicitate al acestor derivați este mai mic, iar la (II) și (V) aproximativ egal cu al d-tubocurarinei.

Tabela 2

Toxicitatea derivaților fluorenului determinată prin injecții subcutane la șoareci (D. L. 50)

Substanța	D.L. 50 valoarea medie μg/kilocorp	Limita superioară D.L. 50 μg/kilocorp	Limita inferioară D.L. 50 μg/kilocorp	Eroarea comisă %	D.L. 50 d-tubocurarină / D.L. 50 substanță (gradul de toxicitate)
I	7 730	8 794	6 795	12	0,077
VIII	5 380	6 217	4 669	14	0,111
VII	2 301	2 642	2 007	13	0,259
IV	1 448	1 688	1 242	15	0,412
VI	1 348	1 419	1 281	5	0,442
III	1 082	1 219	961	11	0,552
V	614	699	539	12	0,972
d-tubocurarina	597	659	540	9	1,000
II	506	682	546	11	1,180

Substanțele curarizante mai pot fi clasificate și din punctul de vedere al acțiunii lor antiacetilcolinice pe mușchi drept abdominal de broască.

Dintre cercetătorii care au folosit această metodă pentru evidențierea relațiilor dintre structura unor săruri cuaternare de amoniu și activitatea lor antiacetilcolinică, menționăm pe J. Raventos [12], iar la noi în țară pe C. Iordache [6]. De asemenea, J. Cheymol și E. Corteggiani [3] recomandă această metodă pentru cercetarea substanțelor curarizante, iar mai recent D. Bovet [1] o propune pentru clasificarea curarelor în pahicurare și leptocurare.

Experiențele noastre, în număr de 123, au fost efectuate pe broaște capturate în perioada de iarnă. Pentru a exclude variațiile de la o zi la alta, s-a lucrat concomitent pe 12 preparate de mușchi drept abdominal zilnic.

Metoda de lucru a fost următoarea : mușchiul s-a izolat și suspendat într-o băiță cu soluție Ringer la temperatura camerei (capacitatea egală cu 5 ml). Oxigenarea preparatului s-a realizat cu un curent continuu de aer. Spălările mușchiului cu ser Ringer, precum și introducerea substanței a cărei acțiune se cercetează (dizolvată în ser Ringer), s-au făcut prin tubulura laterală inferioară a băiței. Cu ajutorul unei cantități de acetilcolină cuprinse între 1 și 2 μg/ml, lăsate în contact cu mușchiul 2 min, am obținut o contracție de o amplitudine convenabilă, care s-a înregistrat mecanic cu ajutorul unui kimograf. Preparatul s-a spălat cu ser Ringer, pînă cînd acesta a revenit la tonusul inițial. După obținerea contracțiilor etalon la acetilcolină, s-a introdus în băiță o cantitate de clorură de d-tubocurarină cuprinsă între 0,5 și 1 μg/ml (dizolvată în soluție Ringer). S-a lăsat mușchiul în contact cu d-tubocurarina timp de 5 min și apoi s-a introdus în băiță o cantitate de acetilcolină egală cu acea stabilită la începutul experienței pentru etalonare și s-a înregistrat răspunsul contractil. După spălări repetate ale mușchiului cu soluție Ringer și revenirea acestuia la contracția acetilcolinică etalon, s-a introdus în băiță soluția Ringer care avea dizolvată substanța a cărei acțiune se cerceta. Cantitățile de substanță s-au ales astfel încît să producă o inhibiție a contracției acetilcolinice de aceeași valoare ca și în cazul d-tubocurarinei.

La interpretarea rezultatelor s-a considerat că la o inhibare egală a contracției acetilcolinice, corespunde o activitate egală [3].

Toate sărurile cuaternare de amoniu cercetate de noi, antagonizează acetilcolina pe mușchi drept abdominal de broască, încadrîndu-se în categoria pahicurarelor.

Din tabela 3 se observă că substanța (I) are o acțiune de 150 ori mai slabă decît d-tubocurarina, (II), (III), (VI), (VIII) de 2 ori; (IV) și (VII) egală, iar (V) de două ori mai puternică.

Cele 8 săruri cuaternare de amoniu derivate de la 2,7-diaminofluoren, au mai fost cercetate pe un număr de 63 cîini anesteziați (morfină 0,05 mg/kilocorp și α-cloraloză 0,1 g/kilocorp). S-a înregistrat simultan și pe același animal efectul substanțelor asupra respirației (prin intubație traheală), asupra presiunii carotidiene (prin metoda sîngerîndă) și asupra preparatului neuro-muscular *in situ*, folosind tehnica descrisă într-o altă lucrare a noastră [10].

Pentru obținerea unei reacții motoare de o amplitudine convenabilă, am procedat la faradizarea indirectă a mușchiului gastrocnemian, la intervale de 30 s, folosind tehnica lui C. Sherrington [7, pag. 115]. Substanțele de cercetat, dizolvate în ser fiziologic 9‰, în concentrații de 0,02 sau 0,1 mg/ml, au fost administrate în jugulara externă a cîinilor, cu ajutorul unei pompe de perfuzie electrică. Ținem să precizăm că am folosit de preferință un debit de perfuzie lent, care are avantajul că ne permite să observăm cu înlesnire eventualele acțiuni ale substanțelor asupra

Tabela 3

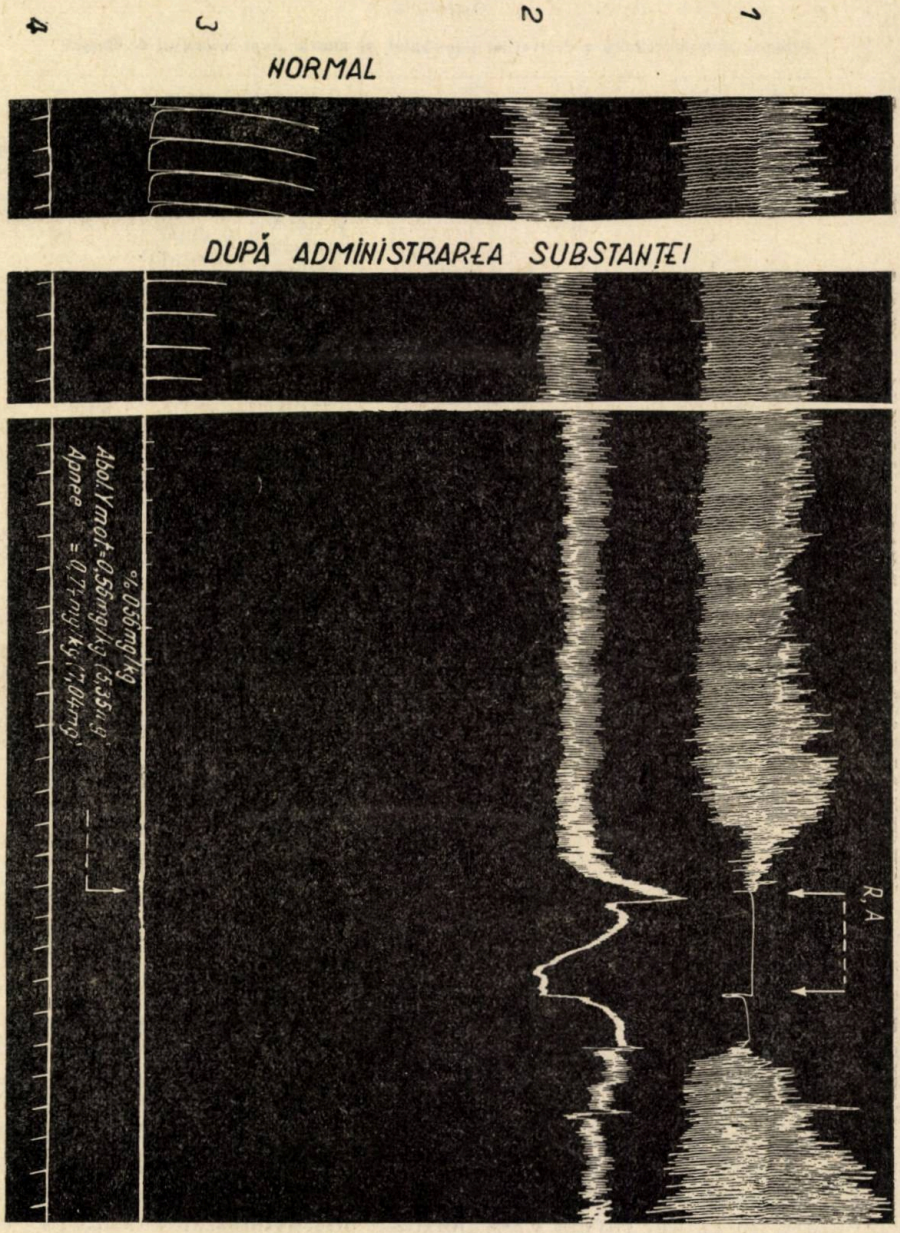
Acțiunea antiacetilcolinică a derivaților fluorenului, pe mușchi drept abdominal de broască

Nr. crt.	Nr. exp.	Substanțele	ACH etalon µg/ml	Substanțele µg/ml	Diferența medie între înălțimea răspunsului mușchiului la ACH etalon %		Activitatea substanței față de d-tubocurarină
					înainte și după d-tubocurarină	înainte și după substanță	
1	11	d-tubocurarină I	1 sau 2	0,5 75	−62	−66	150 ori mai slabă
2	23	d-tubocurarină VIII	1 sau 2	0,5 1,25	−70	−67	2 „ „ „
3	16	d-tubocurarină II	1 sau 2	0,5 1	−75	−67	2 „ „ „
4	12	d-tubocurarină III	1	0,5 1	−56	−50	2 „ „ „
5	12	d-tubocurarină VI	1	0,5 1	−56	−67	2 „ „ „
6	11	d-tubocurarină VII	1	1 1,25	−79	−82	egală
7	23	d-tubocurarină IV	1	1 1	−72	−61	„
8	15	d-tubocurarină V	1 sau 2	1 0,5	−76	−70	2 ori mai puternică

presiunii arteriale, precum și ordinea în care sînt afectate de paralizie respirația și preparatul neuro-muscular.

S-a constatat că derivații curarizanți produc, în funcție de dozele administrate și de viteza de perfuzare a lor, o reducere treptată a amplitudinii și ritmului mișcărilor respiratorii, pînă la suprimarea completă a acestora. Pentru a preveni moartea animalului este necesară instaurarea respirației artificiale (fig. 1).

Am observat la unele substanțe că perfuzarea cu o viteză lentă determină o curarizare îndelungată care nu afectează respirația. În această privință este semnificativă experiența din 4.VI.1958 efectuată pe un cîine în greutate de 11 kg, căruia i s-a perfuzat intravenos substanța (V) cu o viteză de 0,07 mg/min, timp de 52 min. La acest animal nu s-a mai produs apneea, deși era complet paralizat. Suprimarea reacției motoare la excitarea indirectă a mușchiului gastrocnemian, obținută în acest caz la doza de 0,24 mg/ml a fost menținută timp de 6 ore și 40 min, prin administrarea la fiecare 10 min, a unor doze de întreținere a curarizării (în total 1,32



Acțiunea substanței (VI) asupra respirației, presiunii arteriale și reacției motoare la câine anesteziat cu α-cloraloză. R.A. — respirație artificială.
1 — Respirația ; *2* — presiunea arterială ; *3* — reactia motoare ; *4* — excitarea la 30 s.

mg/kilocorp). În tot acest interval de timp, respirația proprie a animalului s-a menținut.

În condiții experimentale identice, apneea se produce la dozele medii cuprinse în tabela 4.

Tabela 4

Acțiunea derivaților de la 2,7 – diaminofluoren asupra ciinilor în experiment acut

Substanțele	Nr. exp.	Suprimarea reacției motoare			Apneea		
		Dozele medii mg/kilocorp	Deviația standard S	Eroarea E mg/kilocorp	Dozele medii mg/kilocorp	Deviația standard S	Eroarea E mg/kilocorp
V	7	0,37	0,12	±0,04	0,64	0,11	±0,04
IV	7	0,50	0,10	±0,04	0,58	0,16	±0,06
VI	5	0,51	0,06	±0,02	0,54	0,11	±0,04
VII	6	0,97	0,42	±0,16	1,12	0,34	±0,13
III	5	0,99	0,44	±0,19	0,75	0,16	±0,07
II	5	1,22	0,11	±0,04	0,97	0,14	±0,06
VIII*)	2	1,67 parțial paralizat	—	—	1,67	0,19	±0,14
I*)	1	fără efect la 40 mg/kilocorp			—	—	—

*) S-a lucrat pe un număr mic de animale, deoarece nu am avut cantități suficiente de substanțe.

Substanțele studiate de noi, mai determină la cîini și suprimarea răspunsului la excitarea indirectă a mușchiului gastrocnemian *in situ*. Această acțiune curarizantă se realizează la dozele înscrise în tabela 4. Și din aceste experiențe reiese că (I) este cel mai slab curarizant, urmînd apoi în ordinea crescîndă a activității: (VIII), (II), (VII), (VI), (IV), (V). Trebuie să menționăm că în condițiile noastre experimentale, d-tubocurarina produce curarizare la doza de 0,6 mg/kilocorp [10].

Se constată că substanțele cele mai active (IV), (V), (VI) și (VII) determină suprimarea reacției neuromotoare înainte de apnee; (II) și (VIII) determină mai întîi apnee și ulterior curarizare, probabil datorită unei acțiuni toxice la nivel central.

Asupra presiunii arteriale la cîini, în cazul unei perfuzări lente, nu se constată modificări notabile la majoritatea derivaților. În general, la o perfuzie înaintată, concomitent cu instalarea apneii, se produce o creștere a tensiunii arteriale de scurtă durată și apoi o scădere mai mult sau mai puțin accentuată, fenomen tipic produs în urma unei anoxemii (citat după [7]). În această fază, dacă se instituie animalului respirație artificială, nivelul presiunii arteriale revine și se menține la valorile anterioare apneii.

Substanțele (VII), (VIII) și mai ales (II) determină reducerea și chiar dispariția hipotensiunii produse în urma excitării capătului periferic al nervului vag. Ceilalți derivați par să fie lipsiți de asemenea efecte ganglioplegice.

Din cele expuse, rezultă că substanțele studiate de noi prezintă acțiuni curarizante puternice. Deoarece distanțele dintre grupările cuaternare de amoniu sînt aceleași la toate substanțele — 7 atomi de carbon — este evident că diferențele de activitate se datoresc anumitor grupări funcționale din restul moleculei lor. Astfel, introducerea radicalului benzal, în poziția 9 a fluorenului, imprimă la substanța (II) o mărire apreciabilă a activității curarizante pe majoritatea testelor, în comparație cu produsul (I). Mergînd mai departe cu analiza relațiilor dintre structura chimică și activitatea curarizantă, observăm că derivații benzalfluorenului au de asemenea activități curarizante variate, datorită grupărilor metoxi și metilen-dioxi. Introducerea unei singure grupări metoxi în poziția para, determină la substanța (V) — comparativ cu ceilalți produși — o activitate curarizantă maximă pe majoritatea testelor; introducerea grupării metoxi în poziția meta și apoi în orto, determină o slăbire din ce în ce mai pronunțată a activității curarizante, derivații (IV) și (III) fiind mai slabi decît (V). Prezența a două grupări metoxi în pozițiile 3′, 4′ la substanța (VI) nu determină o potențare mult mai mare a activității curarizante în comparație cu derivatul para; de asemenea, gruparea metilen-dioxi pare să imprime substanței (VII) o activitate mai mică, comparativ cu ultimele două.

Este interesant de menționat că introducerea în poziția para a încă unei grupări cuaternare de amoniu, determină la substanța (VIII) cea mai scăzută activitate curarizantă dintre toți derivații benzal-fluorenului. Acest fapt experimental vine să întărească constatările lui A. Funke, C. O. Engler, I. Jacob și F. Depierre [5], după care adiționarea a mai mult de două grupe de amoniu cuaternar la o serie de compuși nu face să crească puterea curarizantă.

Constatările noastre arată o dată mai mult că poziția grupărilor funcționale în molecula unor substanțe curarizante influențează activitatea fiziologică.

Explicarea acestor diferențe notabile în activitatea curarizantă a substanțelor studiate, poate fi făcută cu ajutorul ipotezei acad. E. Macovschi [8]. Într-adevăr, cele mai active substanțe prezintă activitate maximă datorită gradului de lipofilie ridicat, imprimat de grupările benzal, metoxi, metilen-dioxi. Prezența a trei grupări cuaternare de amoniu, determină micșorarea lipofiliei, deci o reducere a activității curarizante.

Deoarece, din datele obținute rezultă că substanțele (V) și (VI) sînt mai active decît d-tubocurarina și totodată prezintă efecte secundare mai puțin accentuate, considerăm că ele merită să fie cercetate mai departe, în vederea introducerii în practica medicală.

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R. și Laboratorul de fiziologia animalelor și a omului de la Facultatea de științe naturale a Universității „C. I. Parhon”

ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЛЕЙ АММОНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 2,7-ДИАМИНАФЛУОРЕНА НА ЖИВОТНЫЙ ОРГАНИЗМ

РЕЗЮМЕ

В работе изучается кураризирующее действие восьми производных 2,7-диаминофлуорен. При исследовании курареподобного действия этих веществ применялись следующие методы: исчезновение рефлекса выпрямления у лягушек, проба „падения головы" у кроликов, токсичность в результате подкожных вспрыскиваний у мышей, количественное определение различных степеней отравления у кроликов, антиацелилхолиновое действие на прямой мышце живота лягушки, действие данных веществ на дыхание, артериальное давление и нервно-мышечный препарат „in situ" у анестезируемых собак.

Из исследованных веществ, два — а именно двухлористый 2,7 - бис - (триметил аммоний) - 9 - (пара -метокси - бензал) - флуорен и двухлористый 2,7 - бис - (тримеимламмоний) - 9 - (3^1, 4^1 - диместокси-бензал)— флуорен, более автивны чем *d*-тубокурарин и вместе с тем представляют менее ярко выраженные вторичные эффекты.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Действие вещества (VI) на дыхание, артериальное давление и двигательную реакцию у собаки, анестизированной α- хлоралозой. Р.А. — искусственное дыхание, 1 — дыхание; 2 — артериальное давление; 3 — двигательная реакция; 4 — возбуждение после 30 сек.

ACTION, SUR L'ORGANISME ANIMAL, DE CERTAINS SELS QUATERNAIRES D'AMMONIUM DÉRIVÉS DU DIAMINOFLUORÈNE-2,7

RÉSUMÉ

On a recherché l'activité curarisante de huit dérivés du diaminofluorène-2,7. L'action curarisante de ces substances a été étudiée par les méthodes suivantes : suppression du réflexe de redressement chez la grenouille, test de la «chute de la tête» chez les lapins, toxicité par des injections sous-cutanées chez les souris, estimation quantitative des différentes phases d'intoxication chez les lapins, action antiacétylcholinique sur le muscle abdominal droit de la grenouille, action de ces substances sur la respiration, sur la pression artérielle et sur la préparation neuro-musculaire *in situ* chez les chiens anesthésiés.

Deux des substances étudiées, — le dichlorure 2,7-bis-(triméthylammonium)-9-(para-métoxy-benzol)-fluorène et le dichlorure 2,7-bis-(triméthylammonium)-9-(3′,4′-diméthyloxybenzol)-fluorène — sont plus actives que la tubocurarine-d et présentent en même temps des effets secondaires moins accentués.

EPLICATION DES FIGURES

L'action de la substance (VI) sur la respiration, sur la pression artérielle et sur la réaction motrice chez le chien anesthésié avec α-chloralose. R.A. — respiration artificielle.

1 — Respiration ; *2* — Pression artérielle ; *3* — Réaction motrice ; *4* — Excitation après 30 s.

BIBLIOGRAFIE

1. BOVET D., *Some aspects of the relationship between chemical constitution and curare-like activity.* Ann. N. Y. Acad. Sci., **54**, 407—432 (1951).
2. CAVALLINI G., FERRARI W., MONTEGAZZO P., *Über einige synthetische Substanzen mit Curarewirkung.* Farmaco-Pavia, *6*, 63—73 (1951).
3. CHEYMOL J., CORTEGGIANI E., *Etude critique des méthodes de standardisation des curares naturels et de synthèse.* III. Ann. pharm. franç., **VII**, 368—395 (1949).
4. DOBRESCU F., *Săruri cuaternare de amoniu derivate de la 2,5- şi 2,7-diaminofluoren.* Studii şi cercetări de chimie, **VIII**, *1*, 157—171 (1960).
5. FUNKE A., ENGLER C. O., JACOB I., DEPIERRE F., *Sels d'ammonium quaternaire des dérivés aryl-aliphatiques. Propriétés curarisantes.* C.R. Acad. Sc., **228**, 716—18 (1949).
6. IORDACHE C., *Acţiunea unor săruri cuaternare de amoniu asupra comportării muşchiului drept abdominal de broască faţă de acetilcolină.* Com. Acad. R.P.R., **V**, *8*, 1181—1186 (1955).
7. SHERRINGTON C., *Mammalian Physiology. A course of practical exercises.* Oxford, 1919, 38.
8. MACOVSCHI E., *Atti XI Congresso Societa Italiana di anesteziologia. Simposio Internationale su curaro, curarosimili e curarizzanti.* Venezia, 12—15.IX.1958, 178—197.
9. MAHFOUZ M., *The fate of Tubocurarine in the body.* Brit. J. Pharmacol., *4*, 295 (1949).
10. MEDEŞAN C., STOICA M., *Acţiunea chinindihomoneurinei asupra respiraţiei, presiunii arteriale şi reacţiei motoare la ciine.* Com. Acad. R.P.R., **VIII**, *2*, 177—182 (1958).
11. ПРЕОБРАЖЕНСКИЙ Н. А., ГЕНКИНА Е. И., *Химия органических лекарственных веществ.* Госхимиздат, Москва-Ленинград, 1953, 276—289.
12. RAVENTOS J., *Synergismus und Antagonismus von Acetylcholin und quaternaren Ammoniumverbindungen.* Chem Z., **I**, 4821 (1937).
13. SCHNEIDER W., *Chemie und Pharmakologie curarewirksamen synthetischer Substanzen.* Arzneimittel-Forschung, *12*, 597—606 (1953).

INFLUENȚA TUBOCURARINEI ASUPRA ACTIVITĂȚII ACETILCOLINESTERAZEI ȘI A SINTEZEI ACETILFOSFATULUI ÎN ERITROCITE

DE

I. KIȚULESCU și V. BĂLUȚĂ

Se știe că acțiunea curarei se exercită asupra transmisiei musculare la nivelul plăcii motorii, împiedicînd acțiunea acetilcolinei [1].

În lucrări anterioare [2], [3] am arătat că în sistemul acetilcolină-colinesterază intervine un element energetic, acetilfosfatul. Am demonstrat că sinteza acestuia este dependentă de activitatea colinesterazelor. Energia mare pe care acetilfosfatul o conține ar putea fi responsabilă de modificările permeabilității membranelor celulare asociate potențialelor bioelectrice, modificări puse pe seama activității colinesterazelor.

În lucrarea de față am căutat dovezi în privința relației dintre acțiunea tubocurarinei și sinteza acetilfosfatului, presupunînd că această relație ar fi cuprinsă în mecanismul prin care tubocurarina blochează acțiunea acetilcolinei.

Am arătat în lucrări anterioare că sinteza acetilfosfatului din acetilcolină este dependentă nu numai de activitatea colinesterazelor, dar și de activitatea unor importante enzime care catalizează transportul de electroni [4], așa încît efectul tubocurarinei asupra sintezei acetilfosfatului se poate produce prin mai multe căi.

În lucrarea de față am cercetat modalitatea prin care tubocurarina influențează sinteza acetilfosfatului, urmărind relația dintre influența cunoscută pe care tubocurarina o exercită asupra activității colinesterazelor [14] și efectul tubocurarinei asupra sintezei acetilfosfatului.

Am folosit ca material experimental eritrocitele, deoarece membrana lor conține acetilcolinesterază, enzimă pe care D. Nachmansohn și colaboratori au legat-o de generarea potențialelor bioelectrice [5]. Schimbările în permeabilitate care însoțesc variațiile de biopotențial pot fi influențate și ele de tubocurarină, dacă mecanismul de acțiune al tubocurarinei s-ar exercita prin inhibiția acetilcolinesterazelor.

Deoarece topografia enzimelor în arhitectonia membranei influențează activitatea lor [6], am căutat date în privința influenței tubocurarinei asupra activității colinesterazelor și asupra sintezei acetilfosfatului, în legătură cu starea membranei eritrocitului. De aceea, lucrările s-au efectuat paralel pe eritrocite hemolizate și nehemolizate.

MATERIAL ȘI METODĂ

S-a folosit sînge uman, proaspăt, defibrinat prin agitare pe perle de sticlă. Eritrocitele obținute prin centrifugare au fost spălate de trei ori cu ser fiziologic și separate în două părți egale : o parte a fost hemolizată cu un volum egal de apă, cealaltă a fost diluată cu ser fiziologic în proporții asemănătoare primei părți (vol./vol.).

Activitatea colinesterazelor a fost determinată manometric, la aparatul Warburg, utilizînd tampon Ringer $-CO_3HNa$, la pH = 7,4, saturat cu amestec gazos de N_2 95%, cu 5% CO_2, diluat în proporție de 1 : 6 cu apă distilată.

Substratul a fost acetilcolina clorhidrică, în soluție apoasă 0,2 g%, folosindu-se 1 mg pentru fiecare probă.

Eritrocitele, hemolizate sau nu, s-au utilizat în cantități de 0,25 ml din diluția 1 : 1.

Tubocurarina clorhidrică (Burroughs Wellcome) s-a folosit în proporție de 0,2 ml (din soluție de 10 mg/ml) pentru 1 ml de eritrocite diluate, adăugîndu-se acestora cu 15 min înainte de determinare.

Temperatura a fost de 37°C, durata experienței fiind de 20 min, iar numărul oscilațiilor fiind de 120/min.

Metoda de dozare a acetilfosfatului a fost arătată în alte lucrări [2], [3].

Eritrocitele au fost utilizate după pregătirile preliminare arătate mai sus. Nu li s-a modificat pH-ul. S-a folosit 1 ml din eritrocitele diluate ca mai sus, la care s-a adăugat 0,2 ml tubocurarină și 0,3 ml apă sau ser fiziologic, iar în momentul efectuării reacției s-a adăugat 0,5 ml acetilcolină.

Capacitatea eritrocitelor, hemolizate sau nu, de a sintetiza acetilfosfat din acetilcolină s-a determinat după un contact de 10 min cu tubocurarina. Durata reacției a fost de 15 s la temperatura camerei, iar concentrația acetilcolinei folosite a fost de 10 mg pentru fiecare probă.

Cantitatea de acetilfosfat rezultat a fost pusă în evidență prin metoda de dozare a acetilfosfatului dată de F. Lipmann și colaboratori [7].

După amestecul eritrocitelor cu soluția de hidroxilamină indicată de metodă, nu s-a depășit în nici o probă pH-ul = 6,41. Fiecare probă a fost lucrată în paralel cu o probă oarbă, care a conținut exact același amestec de eritrocite și acetilcolină, eritrocitele fiind însă în prealabil inactivate cu o soluție de eserină 4 mg‰, folosită în proporție de 0,2 ml pentru 1 ml eritrocite diluate.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Din rezultatele consemnate în figurile 1 şi 2 se constată că activitatea colinesterazelor este inhibată de tubocurarină, această inhibiţie fiind mai accentuată în probele cu eritrocite nehemolizate (−23%) decît în probele cu eritrocite hemolizate (−15%).

Influenţa tubocurarinei asupra sintezei acetilfosfatului în eritrocitele hemolizate şi nehemolizate urmează sensul modificărilor suferite de

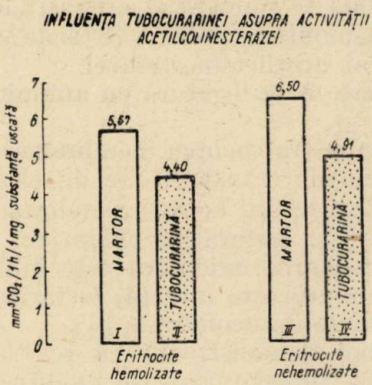


Fig. 1. — Influenţa tubocurarinei asupra activităţii acetilcolinesterazei.

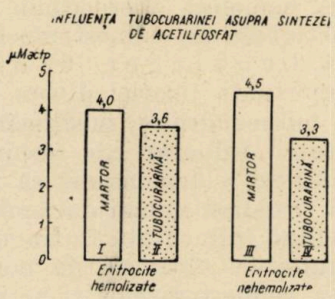


Fig. 2. — Influenţa tubocurarinei asupra sintezei acetilfosfatului.

activitatea colinesterazică. Sinteza acetilfosfatului este inhibată de soluţia de tubocurarină mai accentuat în eritrocitele nehemolizate (−26% decît în eritrocitele hemolizate (−10%).

Inhibiţia relativ slabă, de −23% şi −26%, pe care o exercită tubocurarina asupra activităţii colinesterazelor şi a sintezei acetilfosfatului, la concentraţia la care *in vivo* ea produce efecte fiziologice importante, ar părea să arate că mecanismul direct prin care tubocurarina îşi exercită acţiunea fiziologică nu s-ar datora acestor inhibiţii.

Totuşi, dacă se ţine seama de cunoscuta inegalitate dintre rezultatele obţinute *in vitro* şi cele obţinute *in vivo*, inhibiţia produsă *in vitro* de tubocurarină asupra activităţii colinesterazelor şi a sintezei acetilfosfatului merită să fie luată în considerare.

Aceasta cu atît mai mult cu cît se constată că acţiunea tubocurarinei ar fi în legătură cu o anumită stare funcţională a acetilcolinesterazei, permisă de integritatea membranei, deoarece hemoliza eritrocitului provoacă o scădere a activităţii acetilcolinesterazelor, o sinteză a acetilfosfatului micşorată, dar şi o sensibilitate scăzută a sintezei acetilfosfatului şi a activităţii colinesterazelor faţă de acţiunea tubocurarinei (inhibiţie — 10 şi −15%).

Nu putem aprecia în ce măsură manipulările experimentale au modificat această stare funcţională a acetilcolinesterazelor chiar în eritrocitele nehemolizate.

Un fapt care merită să fie scos în evidență este asemănarea dintre modificarea pe care o suferă sinteza acetilfosfatului sub influența tubocurarinei, cu aceea produsă de curarizant asupra colinesterazelor, demonstrînd încă o dată legătura strînsă dintre sinteza acetilfosfatului și activitatea colinesterazică arătată de noi în lucrări anterioare.

Relația dintre activitatea acetilcolinesterazei și membrana eritrocitară are o deosebită importanță.

S-a arătat de mai mulți autori că sistemul acetilcolină-colinesterază are un rol important în permeabilitatea diferitelor celule, nu numai a celulelor nervoase. Printre aceste celule se numără și eritrocitele.

S-a demonstrat că unii agenți hemolitici, morfina [8] și de asemenea toxina tetanică [9], sînt inhibitori ai acetilcolinesterazei.

Deci, hemoliza eritrocitului poate fi în legătură cu anumite modificări funcționale ale colinesterazelor.

L. A. Lehninger [6] a demonstrat pentru membrana mitocondrială importanța relației dintre enzimele transportoare de electroni și structura mitocondriilor, modificările structurii acestei membrane ducînd la importante tulburări ale respirației și fosforilării oxidative. De asemenea, autorul a demonstrat că fosforilarea oxidativă este inhibată de hormonul tiroidian numai dacă mitocondria este intactă, fosforilarea oxidativă nefiind influențată în fragmentele mitocondriale [6].

Rezultatele obținute de noi mai demonstrează că relația dintre activitatea colinesterazelor și acțiunea tubocurarinei se modifică atunci cînd legătura enzimei cu membrana eritrocitului este tulburată.

În mai multe lucrări, M. E. Greig a adus dovezi asupra legăturii dintre sistemul acetilcolină-colinesterază din membrana eritrocitară și permeabilitatea acesteia [10], [11], [12].

Într-o lucrare anterioară [13], s-a constatat cu ajutorul izotopului radioactiv al fosforului P^{32} activarea pe care acetilfosfatul sintetic o produce asupra permeabilității eritrocitului.

Transportul activ prin membrana celulară se știe că este o funcție metabolică complexă, cu rol deosebit în viața și funcțiile celulei. De aceea, legarea acțiunii curarizantelor de permeabilitatea celulară ar putea, printr-un studiu mai adîncit, să aducă date importante pentru biochimie și fiziologie.

Institutul oncologic, București

ВЛИЯНИЕ ТУБОКУРАРИНА НА ДЕЙСТВИЕ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ И НА СИНТЕЗ АЦЕТИЛФОСФАТА В ЭРИТРОЦИТАХ

РЕЗЮМЕ

Авторы изучали действие, оказываемое тубокурарином на активность эритроцитарной холинэстеразы и на способность эритроцитов синтезировать ацетилфосфат из ацетилхолина.

Работы проводились на гемолизованных и негемолизованных эритроцитах.

Было установлено, что тубокурарин оказывает тормозящее действие на активность холинэстеразы и на синтез ацетилфосфата. Изменения, получающиеся под действием тубокурарина, более ярко выражены в негомолизованных электроцитах, чем в гемолизованных.

Существует параллелизм между действием, оказываемым тубокурарином на синтез ацетилфосфата и на активность ацетилхолинэстеразы.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Влияние тубокурарина на активность ацетилхолинэстеразы.
Рис. 2. — Влияние тубокурарина на синтез ацетилфосфата.

INFLUENCE DE LA TUBOCURARINE SUR L'ACTIVITÉ DE L'ACÉTYLCHOLINESTÉRASE ET SUR LA SYNTHÈSE DE L'ACÉTYLPHOSPHATE DANS LES ÉRYTHROCYTES

RÉSUMÉ

On a étudié l'action de la tubocurarine sur l'activité de la cholinestérase érythrocytaire et sur la capacité des érythrocytes à faire la synthèse de l'acétylphosphate de l'acétylcholine.

Les recherches ont été effectuées sur des érythrocytes hémolysés et non hémolysés.

On a observé une action inhibitrice de la tubocurarine sur l'activité de la cholinestérase et sur celle de la synthèse de l'acétylphosphate.

Les modifications obtenues par l'action de la tubocurarine sont plus prononcées dans les érythrocytes non hémolysés que dans les érythrocytes hémolysés.

Il existe un parallélisme entre l'action de la tubocurarine sur la synthèse de l'acétylphosphate et sur l'activité de l'acétylcholinestérase.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Influence de la tubocurarine sur l'activité de l'acétylcholinestérase.
Fig. 2. — Influence de la tubocurarine sur la synthèse de l'acétylphosphate.

BIBLIOGRAFIE

1. P. HUGUENARD, Anest. et analg., *2*, 280 (1955).
2. O. COSTĂCHEL, I. KITULESCU, Studii şi cercetări de biochimie, **II**, *1*, 51 (1959).
3. I. KITULESCU, V. BĂLUTĂ, Studii şi cercetări de biochimie, **III**, *1*, 53 (1960).

4. I. KIȚULESCU, V. BĂLUȚĂ, G. DINESCU, *Un nou aspect biochimic al acțiunii unor substanțe care influențează activitatea sistemului nervos* (sub tipar).
5. D. NACHMANSOHN, C. W. COATES, R. T. COX, J. gen. physiol., 25, 75 (1941).
6. L. A. LEHNINGER, în *Enzymes units of biological structure and function.* Ed. O.H. Gaebler, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1956, 545.
7. F. LIPMANN, C. L. TUTTLE, J. biol. chem., **159**, 21 (1945).
8. H. RHODE, Biochem. Z., **131**, 560 (1922).
9. H. J. GENUIT, K. LABENTZ, Arch. exptl. path. pharmakol., **198**, 369 (1941).
10. M. E. GREIG, W. C. HOLLAND, Arch. bioch., **23**, *3*, 382 (1949).
11. M. E. GREIG, S. J. FAULKNER, T. C. MAYBERRY, Arch. bioch. and bioph., **43**, *1*, 46 (1953).
12. M. E. GREIG, A. J. GIBBONS, Arch. bioch. and bioph., **61**, *2*, 346 (1956).
13. O. COSTĂCHEL, N. VOICULET, I. KIȚULESCU, *Influența acetilfosfatului asupra permeabilității membranei eritrocitului studiată cu* P^{32} (lucrare nepublicată).
14. H. M. HARRIS, R. HARRIS, Proc. of the Soc. for exp. biol. and med., **56**, 223 (1944).

CERCETĂRI CANTITATIVE ASUPRA ACȚIUNII d-TUBOCURARINEI

DE

A. TEITEL și A. POPA

Este cunoscut că transmiterea influxului nervos la efector în mușchiul striat se face prin intermediul plăcii mio-neurale. După ipoteza electrochimică asupra transmisiei influxului nervos, acetilcolina eliberată din veziculele sinaptice este capabilă să provoace fenomene de depolarizare numai după formarea unui complex activ cu farmoreceptorii de la acest nivel.

Curarizantele de tipul d-tubocurarinei, prin competiție cu acetilcolina pentru acești receptori, împiedică formarea complexului activ și, în consecință, apariția fenomenului de depolarizare. Se realizează astfel blocarea transmisiei neuro-musculare.

Pe de altă parte se cunoaște că în anumite concentrații ionul de potasiu poate antagoniza curara, pe cînd în concentrații mai mari el are efecte curarizante prin prelungirea depolarizării.

În lucrarea de față ne-am propus să urmărim prin cercetarea excitabilității electrice :

a) corelația dintre instalarea efectului curarizant — după d-tubocurarină — și concentrația acestei substanțe ;

b) relația dintre ionul de potasiu și variațiile cronaxiei musculare sub acțiunea d-tubocurarinei.

Metoda de lucru : am lucrat pe perechi de mușchi drepți abdominali de broască (*Rana ridibunda*), izolați în băi cu Ringer aerat, la temperatura camerei. Am făcut înscrierile contracțiilor lor pe același cilindru, penițele fiind dispuse pe aceeași verticală.

Am determinat cronaxia prin stimuli iterativi și anume din 30 în 30 min.

Fiecare experiență a durat între 24—48 ore, iar excitarea s-a făcut prin intermediul a cîte doi electrozi de cărbune, fixați cîte unul la fiecare

extremitate a băii. În acest fel, fragmentul de muşchi se găsea în momentul excitării într-un cîmp electric omogen, realizat între cei doi electrozi. Am evitat astfel atît variaţiile datorite suprafeţei active a electrozilor, cît şi pe cele datorite localizărilor faţă de zonele excitabile ale muşchilor.

În fiecare determinare am pornit de la cea mai mică intensitate a curentului electric capabilă să dea un răspuns motor. Răspunsul efectorului era deci consecinţa activării formaţiunii celei mai excitabile din muşchiul respectiv.

Am urmărit acţiunea d-tubocurarinei într-o serie de concentraţii crescînde, pentru a stabili concentraţiile minimă şi maximă activă, apoi, în cadrul acestei zone, am realizat o altă serie de concentraţii, pentru a putea face analiza corelaţiilor doză-efect.

Am urmărit la cronaximetru efectele ionului de potasiu pe preparatul curarizat.

REZULTATE

a) Valorile cronaxiei muşchiului necurarizat au variat între 0,105 şi 0,154 ms. Am adăugat d-tubocurarină în concentraţii crescînde, după o serie geometrică cu raţia egală cu 1,78.

b) Valorile cronaxiei muşchilor care au primit d-tubocurarină în concentraţii de 3×10^{-7} M au variat între 0,152 şi 0,172 ms.

c) Concentraţia de 10 ori mai mare de d-tubocurarină, şi anume 10^{-6} M a produs o creştere bruscă a cronaxiei de la valorile cuprinse între 0,152 şi 0,172 ms la aceea de 3,460 ms. Determinările făcute apoi din 30 în 30 min timp de 15 ore, au arătat o menţinere a cronaxiei în jurul valorii de 4 ms.

d) Pentru a verifica dacă blocarea conducerii neuro-musculare de către d-tubocurarină se realizează prin salt, am urmărit acţiunea unei alte serii de concentraţii, cuprinse între doza maximă inactivă şi doza minimă activă, folosind o serie geometrică cu raţia egală cu 1,33. Am constatat astfel că valorile cronaxiei muşchiului necurarizat, cît şi ale muşchiului care a primit curara în concentraţii de 1×1 ; 1,33 ; 1,78 ; 2,37 ; 3 şi $4{,}22 \times 10^{-6}$ M, au variat în limite cuprinse între 0,132 şi 0,190 ms. Adăugarea concentraţiei de $5{,}62 \times 10^{-6}$ M a produs un salt brusc al valorii cronaxiei la 3 ms.

Adăugarea concentraţiilor succesive de 1 şi $1{,}78 \times 10^{-5}$ M a menţinut în platou valoarea cronaxiei.

e) După obţinerea curarizării muşchiului, am adăugat ioni de potasiu (sub formă de clorură de potasiu) în concentraţii cuprinse între $5{,}62 \times 10^{-3}$ şi 1×10^{-2} M. Am constatat la concentraţia de $5{,}62 \times 10^{-3}$ M o scădere a cronaxiei de la valorile anterioare pînă la valori ce au variat între 1,22 şi 1,04 ms. La concentraţia de 10^{-2} M se produce din nou o creştere a cronaxiei, care depăşeşte cu mult efectele produse de d-tubocurarină în dozele cu activitate mare. Aceste valori au variat între 7 şi 11 ms.

DISCUȚII

În dispozitivul nostru experimental toate structurile excitabile din mușchi au fost supuse acțiunii curentului electric. Considerăm că primele răspunsuri ale efectorului la curentul cu intensitate minimă activă, obținut la valori de timp cuprinse între 0,105—0,190 ms, sînt consecința activării structurii celei mai excitabile, în speță a celei nervoase. Concentrații succesive de d-tubocurarină cuprinse între 10^{-6} și $4{,}22 \times 10^{-6}$ M nu influențează transmisia influxului prin nerv și la nivelul joncțiunii neuro-musculare, în așa fel încît valorile cronaxiei nervoase rămîn practic nemodificate.

Există o concentrație critică de d-tubocurarină care produce o creștere bruscă a valorilor cronaxiei la 3,6 ms, corespunzătoare intensității mai mari a curentului electric necesar pentru a activa în mod direct formațiunile musculare propriu-zise ale efectorului, mai puțin excitabile decît cele nervoase. Este deci vorba de o cronaxie musculară. Existența acestei concentrații critice poate sugera că farmoreceptorii de la nivelul plăcii neuro-musculare au o rezervă funcțională considerabilă și că efectorul muscular se comportă și în acest caz după legea tot sau nimic.

Adăugarea ionului de potasiu în concentrație de $5{,}62 \times 10^{-3}$ M produce un efect anticurarizant, dar la această concentrație el nu este capabil să readucă excitabilitatea mio-neurală la valorile inițiale; la concentrația imediat superioară (10^{-2} M) el își exercită acțiunea proprie curarizantă (prin prelungirea depolarizării), printr-un mecanism opus celui prin care acționează d-tubocurarina.

CONCLUZII

În condițiile noastre de experiență, sub acțiunea d-tubocurarinei într-o concentrație critică se produce brusc trecerea de la valorile mici ale cronaxiei nervoase la cele mari ale cronaxiei musculare.

Aceste rezultate sugerează existența unei rezerve funcționale mari a farmoreceptorilor de la nivelul joncțiunii mio-neurale.

Ele mai sugerează că receptorii trebuie să fie blocați peste o anumită limită funcțională, pentru a realiza blocajul mio-neural complet.

Ionul de potasiu are o acțiune anticurarizantă, fără a fi capabil, în condițiile noastre de lucru și în concentrațiile folosite, să readucă excitabilitatea mio-neurală la valorile normale.

I.M.F., Catedra de farmacologie,
București

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ *d*-ТУБОКУРАРИНА

РЕЗЮМЕ

Авторы изучали связь между кураreподобным действием, наблюдаемым после введения *d*-тубокурарина и концентрацией этого вещества, а также отношение между ионом калия и изменениями мышечной хронаксии под влиянием *d*-тубокурарина.

Опыты проводились на прямой мышце живота лягушки, установленной в ванночке с раствором Рингера, при комнатной температуре. Хронаксию определяли повторными стимулами; электрическое возбуждение мышцы вызывалось током, равномерно распределенным на все возбуждаемые структуры, применяя оригинальную технику.

В работе доказывается, что под действием некоторой критической концентрации *d*-тубокурарина происходит резкий переход от малых значений нервной хронаксии к большим значениям мышечной хронаксии. Данное явление указывает на существование некоторого функционального запаса фарморецепторов в области двигательной бляшки, а также на то, что эти фарморецепторы следует блокировать, превышая некоторый функциональный предел, для полной блокады двигательной бляшки.

В указанных условиях работы, ион калия обладает противокураreподобным действием, он не способен довести возбуждаемость двигательной бляшки до ее нормального значения.

RECHERCHES QUANTITATIVES SUR L'ACTION DE LA d-TUBOCURARINE

RÉSUMÉ

On a étudié les corrélations entre l'installation de l'effet curarisant après l'administration de d-tubocurarine et la concentration de cette substance, ainsi que les relations entre l'ion de potassium et les variations de la chronaxie musculaire sous l'action de la d-tubocurarine.

On a fait des essais sur des muscles abdominaux droits de grenouille montés dans un bain contenant de la solution de Ringer, à la température de la chambre. La chronaxie a été déterminée par des stimuli itératifs, l'excitation électrique du muscle étant effectuée par un courant à distribution homogène sur toutes les structures excitables, en utilisant une technique personnelle.

On a démontré que, sous l'action d'une concentration critique de d-tubocurarine, il se produit brusquement un passage des petites valeurs de la chronaxie nerveuse, aux valeurs élevées de la chronaxie musculaire. Ce

fait suggère l'existence d'une réserve fonctionnelle de pharmacorécepteurs situés au niveau de la plaque myo-neurale, et il suggère également que ces pharmacorécepteurs doivent être bloqués au-delà d'une certaine limite fonctionnelle, pour réaliser le blocage myo-neural complet.

Dans les conditions de travail mentionnées, l'ion de potassium possède une action anticurarisante, sans être toutefois capable de ramener l'excitabilité myo-neurale à son état normal.

Dans les conditions de travail mentionnées, l'ion de potassium possède une action anticurarisante, sans être toutefois capable de ramener l'excitabilité myo-neurale à son état normal.

ACȚIUNEA POTASIULUI ASUPRA CRONAXIEI ȘI INFLUENȚAREA EI PRIN PROCAINĂ

DE

A. TEITEL și D. DOBRESCU

Potasiul, element cu multiple acțiuni în viața celulară, participă la constituirea potențialului de polarizare a membranelor și la procesele de depolarizare-repolarizare comune activității celulelor nervoase, musculare și glandulare. El intervine în transmisia neuro-musculară, dar nu acționează direct asupra substratului contractil; probă: cînd este injectat direct în protoplasma celulei musculare, nu provoacă contracția ei [4]; dacă este aplicat însă pe suprafața unei fibre musculare izolate, poate iniția un impuls contractil. Se pare că potasiul desface complexul care menține acetilcolina în stare legată, inactivă. Injectarea de clorură de potasiu în diferite țesuturi duce la eliberarea locală de acetilcolină. Acest proces este probabil de natură enzimatică, necesitînd — ca multe alte reacții enzimatice din organism, intervenția ca activator a unui ion metalic, cu labilitatea caracteristică a păturii sale electronice periferice. Deși nu s-au adus dovezi experimentale în favoarea naturii enzimatice a acestei reacții, s-a dovedit că clorura de potasiu restabilește activitatea fosforilazelor polinucleotizilor, devenite inactive din cauza unei purificări duse prea departe [5].

Asupra fibrei musculare striate potasiul are o acțiune bifazică, în funcție de concentrație: concentrațiile mici sînt excitante, pe cînd cele mari sînt deprimante; înălțimea contracțiilor diminuă, perioada de latență se lungește.

Potasiul, în concentrațiile excitante, poate avea efecte anticurarizante [1], dar în concentrații mai mari el micșorează atît excitabilitatea directă, cît și pe cea indirectă a musculaturii și poate împiedica contracția ei.

Pe de altă parte, se cunoaște acțiunea procainei ca substanță repolarizantă [6] și ca agent care diminuă permeabilitatea membranelor celulare pentru ionii de potasiu. Procaina sensibilizează mușchiul drept abdominal de broască la acțiunea potasiului [8]. Această sensibilizare a fost demonstrată și pentru musculatura netedă a pulmonului de broască. Faptul că sensibilizarea se manifestă atît pentru efectele stimulatoare cît și

pentru cele deprimante ale potasiului pledează pentru un mecanism indirect al acţiunii procainei în acest domeniu şi anume prin intermediul ionilor de potasiu, cu acţiunile lor bifazice specifice.

Au fost descrise multe substanţe care sensibilizează în prezenţa potasiului muşchiul neted sau striat : veratrina, aconitina, delfinina, colchicina, tiocianaţii, tiosulfaţii, cloropicrina, guanidina, derivaţii purinici etc. [2], [3].

În lucrarea de faţă ne-am propus să aducem, prin studiul corelaţiilor dintre procaină şi potasiu, o contribuţie la lămurirea mecanismului de acţiune al acestui cation asupra excitabilităţii muşchiului striat.

Metoda de lucru : cercetările noastre au fost efectuate pe muşchiul drept abdominal de broască (*Rana ridibunda*), izolat într-o baie cu Ringer aerat, la temperatura camerei (20—25°C) [7]. Am urmărit variaţiile cronaxiei determinate prin stimuli iterativi ; determinările au fost făcute în mod obişnuit la intervale de cîte 30 min, uneori la intervale de cîte 5 min. Fiecare experienţă a durat între 24—48 ore, iar excitarea electrică pentru determinarea cronaxiei s-a făcut în mod indirect, prin introducerea în baie a 2 electrozi de cărbune, cîte unul la fiecare extremitate a băii, aşa încît fragmentul de muşchi se găsea în cîmpul electric omogen creat între cei 2 electrozi. În acest fel toate structurile excitabile din muşchi (fibre nervoase, plăci motorii, fibre musculare) au fost supuse simultan acţiunii curentului electric. În metodele folosite pînă acum pentru studiul cronaxiei, rezultatele obţinute erau variabile în funcţie de locul aplicării electrozilor şi de dimensiunile acestora. În metoda noastră aceşti factori de variaţie sînt înlăturaţi. Întrucît la fiecare determinare am folosit cea mai mică intensitate eficace a curentului electric, rezultatul obţinut era datorit răspunsului formaţiunii celei mai excitabile în condiţiile date.

Am urmărit modificările cronaxiei sub acţiunea ionilor de potasiu şi ale procainei, singure şi asociate, începînd cu concentraţiile cele mai mici care au produs o modificare netă a excitabilităţii neuro-musculare a preparatului.

Rezultate : în toate determinările noastre cronaxia a prezentat 2 categorii de valori net deosebite : prima categorie de valori, mici, cuprinse între 0,075—0,720 ms, le-am obţinut pe muşchii de control, nesupuşi acţiunii substanţelor cercetate, sau după doze mici care dădeau variaţii minime ale cronaxiei, iar a doua categorie de valori, mari, cuprinse între 20—40 ms, le-am obţinut sub acţiunea substanţelor cercetate.

Trecerea de la valorile mici la cele mari s-a făcut întotdeauna brusc. Analizînd separat acţiunea celor două substanţe cercetate, am observat că această trecere nu s-a făcut niciodată sub acţiunea clorurii de potasiu în concentraţii de $6{,}4 \times 10^{-3}$ M sau mai mici sau de procaină în concentraţii de 10^{-4} M sau mai mici. Trecerea bruscă a cronaxiei de la valorile mici la cele mari s-a făcut întotdeauna sub acţiunea clorurii de potasiu în concentraţii de 7,5 sau $8{,}6 \times 10^{-3}$ M. Valorile mari ale cronaxiei nu au fost modificate de clorura de potasiu în concentraţii de 1×10^{-2} şi $1{,}78 \times 10^{-2}$ M şi nici de procaină în concentraţii de 1×10^{-6} şi 1×10^{-5} M.

Cercetînd influenţa reciprocă a efectelor celor două substanţe, am observat că trecerea bruscă de la valorile mici ale cronaxiei la cele mari se

produce sub acțiunea simultană a clorurii de potasiu și procainei, inactive cînd acționează separat (clorura de potasiu $5,6 \times 10^{-3}$ și procaina 10^{-6} sau $3,16 \times 10^{-5}$ M; sau clorură de potasiu $6,4 \times 10^{-3}$ M și procainā 1 sau $5,62 \times 10^{-5}$ M). Nici o modificare a valorilor cronaxiei nu se produce cînd clorura de potasiu, în concentrații de $1 - 3,16 \times 10^{-3}$ M, acționează împreună cu procaina în concentrația de 1×10^{-6} M, sau clorura de potasiu $3,16 \times 10^{-3}$ M împreună cu procaina $3,16 \times 10^{-5}$ M.

Menționăm că fiecare administrare de potasiu produce inițial o scădere ușoară și trecătoare a valorilor mici ale cronaxiei. De asemenea, este de reținut faptul că în a doua sau a treia zi de experiență mușchiul răspunde mai rapid la potasiu decît în prima zi.

DISCUȚII

Supunînd toate structurile excitabile din mușchi acțiunii curentului electric, socotim că primele răspunsuri obținute la o durată de 0,075—0,750 ms, cu dublul reobazei, corespund cronaxiei aparatelor nervoase intramusculare, nervi sau plăci motoare. Concentrații foarte mici de potasiu adăugate în plus în Ringer determină o scădere ușoară și trecătoare a valorilor inițiale ale cronaxiei, ceea ce denotă o activare a depolarizării. Concentrații ceva mai mari produc aceleași modificări inițiale, urmate însă de o trecere bruscă la valorile mari, de 20—40 ms, care, după părerea noastră, corespund cronaxiei substanței musculare propriu-zise. În aceste concentrații deci, potasiul prelungește mult depolarizarea, acțiunea sa asemănîndu-se cu aceea a curarizantelor de tip colinergic (decametoniu, succinilcolina). Creșterea inițială a transmisiei neuromusculare înainte de inhibarea ei este o dovadă în plus în favoarea acestui tip de acțiune. Acțiunea anticurarizantă a potasiului, descrisă mai de mult și menționată mai sus, pledează pentru același mecanism.

Procaina, care în unele concentrații slabe produce aceleași modificări inițiale minime și trecătoare ale cronaxiei, în concentrații mai mari sensibilizează substanța musculară la acțiunea potasiului, în sensul că trecerea de la cronaxia nervoasă la cea musculară se face la concentrații de potasiu inactive fără procainā.

CONCLUZII

În condițiile noastre experimentale, sub acțiunea unei concentrații de clorură de potasiu care pare critică, se produce brusc trecerea cronaxiei de la valorile mici, caracteristice pentru aparatele nervoase intramusculare, la valorile mari, caracteristice pentru substanța musculară propriu-zisă.

Aceste rezultate pledează pentru o acțiune curarizantă a potasiului, de tip colinergic.

Procaina sensibilizează mușchiul striat la acțiunea potasiului.

I.M.F., Catedra de farmacologie,
București

ДЕЙСТВИЕ КАЛИЯ НА ХРОНАКСИЮ И ВЛИЯНИЕ, ОКАЗЫВАЕМОЕ НА НЕЕ ПРОКАИНОМ

РЕЗЮМЕ

Было изучено действие, оказываемое калием на мышечную хронаксию, а также изменение этого действия прокаином; опыты проводились на прямой мышце живота лягушки, установленной в ванночке с раствором Рингера. Хронаксию определяли повторными стимулами; электрическое возбуждение мышцы вызывалось током, равномерно распределенным на все возбуждаемые структуры, применяя оригинальную технику.

Используя увеличивающиеся концентрации хлористого калия и прокаина, начиная с наименьших, дающих положительные результаты, доказывается, что под действием некоторой критической концентрации хлористого калия имеет место резкий переход от малых значений нервной хронаксии к большим значениям мышечной хронаксии. Полученные результаты являются указанием на то, что курареподобное действие калия—холинэргетического типа.

Под действием прокаина поперечно-полосатые мышцы становятся чувствительными по отношению к действию калия.

ACTION DU POTASSIUM SUR LA CHRONAXIE ET SA MODIFICATION PAR LA PROCAÏNE

RÉSUMÉ

On a étudié l'action du potassium sur la chronaxie musculaire et sa modification par la procaïne, en expérimentant sur le muscle abdominal droit de grenouille monté dans un bain contenant de la solution de Ringer. On a déterminé la chronaxie par des stimuli itératifs, l'excitation électrique du muscle étant effectuée par un courant à distribution homogène sur toutes les structures excitables, en utilisant une technique personnelle.

En employant des concentrations croissantes de chlorure de potassium et de procaïne, à commencer par les plus petites concentrations qui ont pu déterminer une réponse, on a démontré que sous l'action d'une concentration critique de chlorure de potassium il se produit brusquement un passage des valeurs réduites de la chronaxie nerveuse aux valeurs élevées de la chronaxie musculaire. Ces résultats plaident pour une action curarisante du potassium, du type cholinergique.

La procaïne augmente la sensibilité du muscle strié pour cette action du potassium.

BIBLIOGRAFIE

1. ACHESON G. H., citat în SOLLMANN T., *A manual of Pharmacol.*, Philadelphia, 1957, 1043.
2. COPPÉE G., Arch. Internat. Physiol., **53**, 327 (1943).
3. ДИАБЛОВА П. Е., Физиол. журнал, *3*, 226 (1957).
4. HEILBRUN L. V., WIERCINSKI F. J., citat în GOODMAN L. S., GILMAN A., *The Pharmacol. Basis of Therap.*, New York, 1956, 802.
5. ROLAND F. B., Nature, **180**, *4579*, 246 (1957).
6. SHANES A. M., J. Gen. Physiol., **33**, 729 (1950).
7. СУЗДАЛЬСКАЯ И. П. Физиол. журнал, *I*, 80 (1957).
8. TEITEL A., MARCU C., POPA A., POPESCU E., Comunicare la S.S.M., secția de fiziol., 25. IV. 1959 (sub tipar).

SUBSTANȚE CURARIZANTE DE SINTEZĂ ÎN TRATAMENTUL TETANOSULUI

DE

M. BALȘ

Tetanosul este o boală relativ rară, dar din cauza gravității sale excepționale el constituie una din principalele cauze de moarte printre bolile infecțioase, întrecînd cu mult febra tifoidă, scarlatina, tifosul exantematic și difteria, toate la un loc.

În tetanos se produc contracturi musculare extrem de violente care ajung să imobilizeze cutia toracică și să producă astfel asfixia și moartea bolnavului. Aceste contracturi sînt datorite acțiunii toxinei tetanice.

Pentru combaterea intoxicației tetanice, s-a propus în primul rînd utilizarea unui ser antitoxic. Acest ser însă, care poate neutraliza toxina liberă, nu poate neutraliza toxina fixată pe celulele nervoase.

S-a căutat de asemenea să se combată contractura tetanică printr-o medicație relaxantă, avînd adică un efect opus aceluia al toxinei tetanice. În cadrul acestor medicamente s-a recurs la curara și substanțe de acest tip, cu speranța ca printr-o dozare potrivită să se obțină efectul dorit.

Modul intim în care acționează toxina tetanică nu este pe deplin lămurit. Se știe totuși că toxina acționează mai ales pe celulele din măduva spinării (în special neuronii polisinaptici intermediari), în așa fel încît toate influxurile nervoase venite de la periferie, de la viscere sau din centrii nervoși superiori devin capabile să excite celulele motorii ale coarnelor anterioare și să producă contracția musculară.

Curara și substanțele de acest tip, acționînd la joncțiunea mioneurală împiedică contracția musculară, adică ele au un cu totul alt punct și mod de acțiune decît toxina tetanică.

Curara produce o intoxicație care nu face decît să împiedice una din manifestările intoxicației tetanice. Nu este un antidot sau o „contra-otravă" adevărată.

Mult timp curara și toate substanțele de acest tip nu au putut intra în practica spitalicească, deoarece ele nu făceau altceva decît să înlocuiască

contractura musculară cu o relaxare sau paralizie, fără să amelioreze mecanica ventilației respiratorii. Mobilitatea toracelui continua să rămînă deficitară, nu prin contractura tetanică, ci prin paralizie medicamentoasă.

Introducerea în practică a metodelor moderne de respirație artificială cu ajutorul unor aparate, la bolnavi cu tetanos, curarizați, a însemnat un progres real în tratamentul acestei boli.

Înlăturarea medicamentoasă a contracturii tetanice a redat cutiei toracice supleţea necesară aplicării cu succes a aparatelor de respirație artificială. Speranţele ce s-au pus la început în succesul acestei metode de tratament nu au fost însă pe deplin recompensate. Într-adevăr, prin aplicarea acestui tratament s-au constatat trei aspecte grave de boală ce înainte nu erau cunoscute, erau de mai mică însemnătate sau nu se produceau de loc. Este vorba în primul rînd de intoxicații tetanice ale unor centri nervoşi, ce nu se puteau evidenţia înainte, cînd pe primul plan era asfixia acută prin imobilizarea spastică a cutiei toracice. În al doilea rînd intervin infecții secundare (actualmente mai ales cu germeni rezistenţi la antibiotice), ce sînt favorizate prin aplicarea metodelor de respirație artificială. În sfîrşit, în al treilea rînd, curarizarea atrage după sine o serie de deconexări nervoase, cu întreruperea multiplelor fenomene de interdependenţă neuro-vegetativă ce sînt indispensabile menţinerii echilibrului vital.

Studiul mai atent al intoxicației tetanice a arătat că de cele mai multe ori se prinde mai întîi musculatura scheletică a jghiaburilor vertebrale, a rădăcinii membrelor, a muşchilor respiratorii auxiliari, apoi musculatura inspiratorie şi — poate mai puţin — expiratorie, ce mobilizează grilajul costosternal (în timpul crizelor de contractură paroxistică, toracele se imobilizează în poziție de inspirație medie), iar în ultimă instanţă se prinde musculatura diafragmului. Musculatura faringiană şi laringiană, în formele obişnuite de tetanos, nu este de loc sau este puţin afectată. Curarizantele naturale şi de sinteză mai des utilizate în anestezia chirurgicală au o acţiune ce se instalează şi se ierarhizează într-un mod cu totul diferit şi, putem spune, aproape invers, faţă de acel al intoxicației tetanice.

Curara sau alte substanţe de acest tip produc paralizia musculaturii feţei, a faringelui şi a laringelui, apoi a musculaturii respiratorii şi, în sfîrşit produc paralizia muşchilor netezi viscerali cu oprirea peristaltismului intestinal, tulburări vazomotorii şi deconexări neuro-vegetative multiple.

Din aceste motive, se va evita curarizarea bolnavilor atît timp cît contractura tetanică mai permite încă o ventilație pulmonară satisfăcătoare. Utilizarea curarei implică nemijlocit întubarea bolnavului, traheotomia şi instalarea unui aparat de proteză respiratorie, care prezintă multiple inconveniente şi pericole.

În tetanos, spre deosebire de situațiile chirurgicale, este nevoie de o acţiune de lungă durată, care să se poată întinde pe 1—3 săptămîni.

În practică, cele mai multe rezultate bune s-au obţinut cu d-tubocurarina sau cu succinilcolina, substanţe cu mod de acţiune diferit, dar cu efect curarizant asemănător şi de scurtă durată şi care par să aibă puţine efecte secundare supărătoare. Uneori aceste substanţe s-au utilizat chiar în mod alternativ (cu toate incidentele ce se pot produce în momentul

cînd se face schimbarea de la un tip de curarizant la alt tip de curarizant) pentru a îmbunătăți unele efecte secundare nedorite de umidifiere sau uscăciune a căilor respiratorii.

Substanțele curarizante și mai ales deconexantele și „cocktailurile" litice ce potențializează și desăvîrșesc acțiunea curarizantelor, a relaxantelor și a sedativelor, au o acțiune negativă prin stînjenirea multiplelor reflexe neuro-vegetative și de autoreglare ce sînt necesare menținerii echilibrului vital.

Avem impresia că o dată cu utilizarea în tetanos a fenerganului și a largactilului au început să apară simptome și manifestări neobișnuite sau care înainte erau foarte rare și anume crize de excitație corticală cu agitație, anxietate și delir, uneori chiar excitație maniacală violentă.

Din cele expuse mai sus reiese că deconexantele, relaxantele și curarizantele sînt de mare folos în tratamentul tetanosului, dar că ele nu reprezintă nici pe departe antidoturile ideale ale intoxicației tetanice.

Ar fi de dorit să se poată realiza noi substanțe, cu anumite puncte de acțiune și activitate selectivă, care să se poată utiliza de la caz la caz, în funcție de forma și momentul evolutiv al bolii.

Bineînțeles, toxicitatea și efectele secundare trebuie să fie cît mai mici ; substanțele ar trebui să aibă o acțiune trecătoare și să avem la dispoziție antidoturile specifice. Nu trebuie pierdut din vedere că toate aceste medicamente curarizante și relaxante, chiar dacă îndeplinesc condițiile de mai sus, nu constituie decît o medicație simptomatică imperfectă, căci nu combat decît unul și nu singurul simptom de mare gravitate al tetanosului.

Clinica a II-a Boli Contagioase,
I.M.F., București

СИНТЕТИЧЕСКИЕ КУРАРЕПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА ПРИ ЛЕЧЕНИИ СТОЛБНЯКА

РЕЗЮМЕ

В работе представлено краткое изложение общих принципов применения курареподобных веществ при лечении столбняка. Излагаются некоторые условия, соблюдение которых обязательно при лечении столбняка данными веществами.

SUBSTANCES CURARISANTES DE SYNTHÈSE DANS LE TRAITEMENT DU TÉTANOS

RÉSUMÉ

On fait un bref exposé des principes généraux d'utilisation des substances curarisantes dans le traitement du tétanos. On énonce quelques-unes des conditions que doivent remplir ces substances pour pouvoir être utilisées dans le traitement du tétanos.

CONCLUZIILE CONSFĂTUIRII ÎN PROBLEMA SUBSTANȚELOR CURARIZANTE

Din referatele și lucrările prezentate, ca și din discuțiile purtate, s-au desprins următoarele concluzii cu privire la dezvoltarea în viitor a cercetărilor în problema substanțelor curarizante și cu privire la sarcinile ce revin lucrătorilor din această ramură a științei, în lumina hotărîrilor celui de al III-lea Congres al Partidului Muncitoresc Romîn cu privire la intensificarea cercetărilor științifice și asigurarea maximului de eficiență și anume :

1. Se constată că în țara noastră se fac cercetări susținute în domeniul substanțelor curarizante. Date fiind rezultatele obținute pînă acum și importanța acestei probleme pentru medicină și biologie, se impune continuarea și aprofundarea acestor cercetări.

2. Ar fi necesar ca în viitor să se urmărească :

a) sinteze de noi substanțe curarizante, cu scopul obținerii unor produși cît mai activi și cu acțiuni secundare cît mai slabe ;

b) proprietățile fizico-chimice ale substanțelor curarizante în raport cu condițiile mediului celular heterogen ;

c) legătura dintre structura chimică și activitatea farmacologică a diferitelor substanțe curarizante ;

d) elaborarea unor metode analitice cît mai sensibile, pentru punerea în evidență și dozarea cantităților minimale de substanțe curarizante mai ales în țesuturi ;

e) mecanismul biochimic al acțiunii substanțelor curarizante ;

f) producerea în țară a substanțelor curarizante necesare medicinei ;

g) extinderea folosirii substanțelor curarizante în toate domeniile medicinei în care aplicarea lor poate fi eficientă.

3. Este de dorit ca diferitele colective care lucrează în domeniul substanțelor curarizante, să stabilească legături mai strînse între ele și chiar colaborări, pentru mărirea eficienței cercetărilor.

I. PROBLEME GENERALE. METODE DE CERCETARE

645. SIBI M., BATCU A., DRĂGAN M., FAIGHELIS C., ŞERBAN F., POPESCU C. şi BUSUIOC A., *Metodă pentru cercetarea cistinei în urină.* Studii şi cercet. med., Iaşi, 1959, X, *1*, 93—97.

Pentru a fi pusă în evidenţă în urina bolnavilor de hepatită epidemică, cistina se separă mai întîi de ceilalţi compuşi sulfuraţi prin cromatografie sau electroforeză, după aceea se diferenţiază de ceilalţi aminoacizi cu Rf apropiat, prin polarografie.

A. Batcu

646. TUDORANU GH. şi BRÜL E., *Determinarea concentraţiei ionilor de hidrogen cu ajutorul unui indicator extras din afine.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1958, **LXII**, *1*, 117—118.

Afinele conţin o substanţă ce virează în albastru în mediu alcalin şi în roşu-mov în mediu acid. Autorii au folosit-o pentru a diferenţia o colită de putrefacţie de una de fermentaţie.

A. Batcu

647. DUMITRESCU GH. şi FURNICĂ GH., *Prevenirea acţiunii nocive a radiaţiilor radioactive prin substanţe chimice.* An. rom.-sov., chim., 1959, *3*, 123—174.

Referat general cu 95 indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

648. ALPERN D. E. şi LIPŞIŢ R. V., *Rolul acizilor nucleici şi al substanţelor sistemului adenilic în patogenia inflamaţiei.* An. rom.-sov., med. gen., 1959, *6*, 12—24.

Referat general cu 101 indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

649. STERESCU N., *Cercetări sovietice privind fiziologia şi fiziopatologia hipofizei. II. Hormonii hipofizari. Proprietăţi biologice şi aplicaţii în terapeutică* (partea a II-a). An.rom.-sov., med. gen., 1959, *6*, 25—36.

Referat general cu 55 indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

650. PONOMAREVA E. D., *Despre tulburările metabolismului vitaminei B_{12} în cursul leucozelor.* An. rom.-sov., med. gen., 1959, *6*, 149—156.

Referat general cu 19 indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

II. BIOCHIMIA PROTIDELOR. III. BIOCHIMIA GLUCIDELOR. IV. BIOCHIMIA LIPIDELOR. V. ENZIME. VI. VITAMINE, HORMONI ŞI ALŢI COMPUŞI BIOACTIVI

651. LUNGU AL., *Acţiunea piridoxinei (vitamina B_6) asupra consumului de oxigen la şobolanul alb.* Studii şi cercet. endocrinol., 1959, **X**, *3*, 315—318.

Pentru a lămuri relaţiile dintre vitamina B_6 şi funcţia tiroidiană, se cercetează într-o primă etapă influenţa celei dintîi asupra consumului de oxigen la şobolanul alb. Se constată că vitamina B_6 produce o scădere a metabolismului energetic bazal, în special după două ore de la o injecţie de 50 mg piridoxină pentru fiecare animal.

D. Cotariu

652. VASILESCU V., VLAD-TROACĂ C. şi BURGHIU G., *Cercetări experimentale asupra mecanismului de reglare a secreţiei de oxitocină.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 293—299.

Urmărind mecanismul de lansare în circulaţie a oxitocinei sub influenţa unui stimul fiziologic, suptul şi evaluînd acest răspuns după expulsia laptelui, se constată că în cursul anesteziei generale cu eter şi cloraloză are loc eliberarea reflexă de oxitocină ; uretanul suprimă acest reflex. Administrarea de pituitrină la animale adormite cu uretan duce la expulsia laptelui, în timp ce soluţia cloruro-sodică hipertonică nu are nici un efect. De asemenea, sub acţiunea morfinei secreţia de lapte nu se mai produce.

H. D. Schell

653. CHIOSA L., HĂULICĂ A. şi SCÎRLETE T., *Proprietăţi farmacologice ale unei oxime : clorura de fenacil-oximpiridinium. Nota II. Proprietăţi ocitocice.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 477—483.

Produsul are o acţiune ocitocică importantă, care se deosebeşte însă de aceea a hormonului ocitocic şi se aseamănă cu acţiunea substanţelor ocitocice extrase din plante, din grupul ergotaminei sau al celor conţinînd un nucleu piridinic. Produsul are perspective de aplicaţii clinice, acţiunea sa poate fi oprită în orice moment dorit cu fenergan.

H. D. Schell

654. MARINESCU I. P., *Drojdia de bere ca sursă de vitamine.* Lucr. şt. I.C.A., 1958, **II**, 111—119.

S-au stabilit condiţiile optime pentru obţinerea unei drojdii desamărîte, prin tratare alcalină cu ajutorul carbonatului de sodiu. Această drojdie a fost transformată prin autoliză şi extracţie într-un concentrat de complex B cu o activitate vitaminică ridicată şi calităţi organoleptice corespunzătoare. Drojdia desamărîtă şi concentratul de complex B găsesc utilizare în vitaminizarea unei game variate de produse alimentare.

C. Focşa

655. CIUPERCESCU V., *Concentrate de vitamine din germeni de grîu.* Lucr. şt. I.C.A., 1958, **II**, 121—130.

Se pot obţine concentrate vitaminice prin extracţia germenilor de cereale cu alcool etilic sau cu benzină de extracţie. Prin folosirea alcoolului se extrag şi vitaminele din grupa B şi vitamina E; cu benzină, vitaminele B rămîn în reziduu şi se pot valorifica sub formă de făină vitaminică. Prin saponificarea uleiului de germeni şi purificarea fracţiunii nesaponificabile cu acetonă, s-au obţinut concentrate de vitamină E care conţin pînă la 25% vitamină.

C. Focşa

656. MARINESCU I. P. şi COTUŢIU M., *Obţinerea carotenului din lucernă şi posibilităţi de utilizare în industria alimentară.* Lucr. şt. I.C.A., 1959, **III**, 125—135.

S-au studiat şi s-au stabilit condiţiile optime pentru recoltarea şi pregătirea materiei prime şi pentru desfăşurarea procesului tehnologic de extracţie şi purificare a β-carotenului. Din cauza cantităţii mari de acid ascorbic pe care-l conţine lucerna, s-a studiat de asemenea şi evoluţia conţinutului în această vitamină în timpul recoltării şi în timpul transformării lucernei în făină.

C. Focşa

657. TĂLPĂŞANU FL., *Contribuţii privind obţinerea de vitamină C din măcieş.* Lucr. şt. I.C.A., 1959, **III**, 137—144.

Se descriu condiţiile optime de obţinere a concentratelor de vitamină C din măcieş, prin macerare la 80°C, limpezirea extractelor obţinute prin tratare cu enzime pectolitice şi concentrarea lor în vacuum la temperatura de 45°C. Se obţin concentrate vitaminice cu pînă la 1790 mg vitamină C % g. Ele pot fi conservate bine cu SO_2 în proporţie de 0,12%.

C. Focşa

VII. BIOCHIMIA MICROBILOR. VIRUSURI. BACTERIOFAGI. ANTIBIOTICE. IMUNOCHIMIE

658. PORTOCALĂ R., BOERU V. şi SAMUEL J., *Reproducerea virusului gripal cu ajutorul acidului ribonucleic virotic purificat.* Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *1*, 51—57.

ARN pur, extras din corpusculul elementar gripal, determină el singur, prin incubare în ou embrionat, generarea virusului gripal, cu toate caracteristicile sale infectante, hemoaglutinante, antigenice şi morfologice. ARN a fost purificat prin delipidare cu eter şi extragerea proteinei denaturate prin tratare cu fenol saturat cu apă. Tulpina nouă are caractere diferite de tulpina iniţială.

D. Tănăsescu

659. GRUIA M., BALMUŞ G., MITOIU O. şi POPA M., *Cercetări asupra unor factori elaboraţi de flora microbiană din nazofaringe, cu acţiune inhibitorie asupra virusului gripal.* Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *2*, 179—185.

Acest factor este elaborat de un stafilococ alb, fiind probabil un produs de activitate vitală a germenului crescut în anumite condiţii de mediu. Acţiunea inhibantă, verificată prin controlul pe ouă embrionate şi şoareci, se menţine timp de 30 de treceri.

D. Tănăsescu

660. COPELOVICI Y., CEPLEANU M., SAMUEL J. şi CĂPRARU R., *Studiul electroforetic al serurilor şobolanilor supuşi infecţiei experimentale cu virus gripal sub acţiunea cortizonului.* Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *2*, 198—206.

S-a constatat o scădere iniţială a gama-globulinelor, cu creşterea lor ulterioară şi creşterea beta-globulinelor după tratarea timp de 7 zile cu cortizon.

D. Tănăsescu

661. CAJAL N., MATEESCU S. şi PĂCURARIU E., *Evoluţia gripei experimentale la şoarecele alb tratat cu fosfor radioactiv* (P^{32}). Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *3*, 293—296.

Iradierea internă, prin injectare intraperitoneală de P^{32} (Na_2HPO_4) favorizează infecţia experimentală la şoarecele alb inoculat pe cale intranazală. Procentul de mortalitate, conţinutul în corpusculi virotici şi titrul hemoaglutinant sînt crescute, în timp ce perioada de incubare este scăzută în comparaţie cu martorii.

D. Tănăsescu

662. TĂRCHILĂ D., ALDEA M., BRONIŢKI A. şi PETRESCU A., *Studiul unor substanţe cu acţiune virulicidă asupra virusului gripal din aer.* Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *3*, 334—339.

Acidul lactic (10 mg/m^3) şi extractul alcoolic de răşină de brad impregnat pe hîrtie şi fumigat au un efect protectiv pentru 95% respectiv 100% din animalele menţinute într-o atmosferă infectată cu lichid alantoidian pulverizat. Animalele martor au murit în proporţie de 93% după a 7-a şi a 8-a zi. Pulverizarea soluţiei alcoolice de răşină de brad nu a avut nici un efect.

D. Tănăsescu

663. ATHANASIU P., BOERU V. şi DINU I., *Cercetarea sideremiei în hepatita epidemică.* Studii şi cercet. inframicrobiol., 1959, **X**, *4*, 497—561.
Sideremia creşte datorită unor modificări morfopatologice şi histochimice profunde ale ţesutului hepatic, care provoacă lipsa sau scăderea fierului la nivelul ficatului.

D. Tănăsescu

664. SUHACI I., NEDELCIU D. şi ROSENBLUM M., *Relaţiile dintre capacitatea infectantă şi cea hemaglutinantă la diferite tulpini de virus pseudopestos aviar.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 75—83.

Încercîndu-se disocierea capacităţii infectante (conferită de o fracţiune nucleoproteică) de cea hemoaglutinantă (de care sînt responsabile două fracţiuni glucoproteice), s-a observat o diferenţă netă a tulpinilor în ceea ce priveşte rezistenţa lor la căldură (56°C). Relaţia dintre capacitatea infectantă şi hemoaglutinare variază de la tulpină la tulpină.

D. Tănăsescu

665. GEORGESCU V., VASILIU G., ISOPESCU I., TACU A. şi GRASOIU G., *Utilizarea autolizatului de drojdie de bere în prepararea vaccinului anticarbonos.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 165—176.

Autolizatul de drojdie de bere este un mediu mai uşor de preparat şi mai bogat în substanţe cu azot asimilabil, pe care se pot face cultivări cu randamente asemănătoare celor făcute pe mediul cu cazeină.

D. Tănăsescu

666. MIHĂIŢĂ S., ALBOIU N. şi MARIO DE SIMON, *Determinarea unor constante fizice, chimice şi biologice ale serului antipestos filtrat şi nefiltrat.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 241—249.

Filtrarea prin plăci de azbest şi celuloză dă un ser superior. S-au studiat : viscozitatea, turbiditatea, sedimentul, pH-ul, cenuşa şi flora bacteriană.

D. Tănăsescu

667. GEORGESCU V., TAGA L., TACU A., PASCU L., BOJOI P. şi GRIGORIU N., *Contribuţii experimentale în problema mediilor nutritive bacteriene.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 253—270.

Se studiază valoarea nutritivă a diverse hidrolizate de carne, a unor medii ce conţin proteine vegetale şi a unui autolizat din drojdie de bere. Se propune şi o metodă pentru determinarea valorii nutritive.

D. Tănăsescu

668. CIORTEA G., BÎRZU I., IONESCU I. şi MARCEA E., *Cercetări privind utilizarea mertiolatului de sodiu în aseptizarea cîtorva produse biologice.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 275—288.

Aseptizarea împiedică infecţia în timpul preparării şi păstrării antigenului brucelic, pullorum-gallinarum şi morvos, cît şi a serului antihemolitic antioaie, fără modificări în activitate.

D. Tănăsescu

669. MIHĂIŢĂ S. şi STOICAN V., *Acţiunea mertiolatului de sodiu asupra virusului pestos porcin.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 293—296.

Virulenţa virusului pestos porcin se menţine şi după 398 zile de contact cu mertiolatul de sodiu, iar pesta porcină produsă prezintă o prelungire a perioadei de boală în comparaţie cu cea provocată de virusul netratat.

D. Tănăsescu

670. GHEORGHIU I., ONCIOIU P., CORMUS D. şi STANCA N., *Influenţa îngheţului şi dezgheţului asupra unor seruri şi vaccinuri pentru uz veterinar.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 345—353.

Serul antipasteurelic mixt, serul antitetanic şi serul cărbunos precipitant nu-şi modifică activitatea după 1—10 îngheţuri-dezgheţuri consecutive, în timp ce anatoxina tetanică asociată cu clorura de calciu şi vaccinul contra cărbunelui enfizematos prezintă o activitate mai scăzută.

D. Tănăsescu

671. TACU D. şi TACU A., *Izolarea germenilor specifici din organele provenite de la boii utilizaţi la prepararea serului antirujeolic sau antipasteurelic.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 379—384.

Germenii introduşi sub formă de antigen au fost regăsiţi în diverse organe interne, mai ales în vegetaţiile endocardice şi splină şi au în general aceleaşi caractere morfologice şi biochimice. Virulenţa a fost totdeauna micşorată.

D. Tănăsescu

672. TACU D., *Infecţiunea tuberculoasă la porci şi caracterele tipului de bacil Koch izolat.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 399—403.

Din 13 000 porci examinaţi, 0,40% au avut leziuni generalizate sau localizate în special în ganglionii submaxilari (92%), mezenterici (60%) şi retrofaringieni (56%), iar dintre organe plămînul (68%), ficatul (65%) şi splina (48%) au fost cele mai afectate. Tipurile de b. K. izolate au fost de tip bovin (79%), aviar (16%) şi uman (3,7%).

D. Tănăsescu

673. IANEV E., OGNEANOV D. şi HARALAMBIEV H., *Despre acţiunea fondului stricnic asupra oftalmoreacţiei în tuberculinizare la bovine.* An. Inst. Pasteur, Bucureşti, 1957, **II**, 425—431.

Stricnina introdusă subcutan (0,005—0,015 g%) măreşte sensibilitatea reacţiei, condiţionînd apariţia ei mai timpurie şi mai intensă, fără a împiedica specificitatea. Aplicarea locală în proporţie 1/200 nu influenţează reacţia.

D. Tănăsescu

VIII. BIOCHIMIE VEGETALĂ

674. ENĂCHESCU G., *Variaţia conţinutului în acid ascorbic şi tiamină al cartofilor în timpul păstrării.* Studii şi cercet. biol., ser. biol. veg., 1960, **XII**, *2*, 239—258.

Cele mai mari pierderi de acid ascorbic s-au produs în primele 80—100 zile de păstrare (în pivniţe, temperatura minimă 1°C) şi sînt mai importante la soiurile iniţial mai bogate în vitamină C. La soiurile provenite din plantarea de primăvară, după 130—150 zile de păstrare s-a remarcat o slabă creştere a conţinutului de acid ascorbic, dar după aproximativ 200 zile de păstrare, toate soiurile au atins un nivel asemănător, pierderile fiind de 50—70%. Pierderile de tiamină în timpul păstrării au fost de 12—24% la recolta anului 1954 şi de 26—55% la aceea a anului 1955.

H. Filipescu

675. MILCU ŞT. -M., IONESCU G. şi ISTRATI F., *Modificări biochimice la fructele de pătlăgele roşii (Solanum Lycopersicum) tratate cu tiroxină şi foliculină.* Studii şi cercet. endocrinol., 1959, **X**, *3*, 307—314.

La plante de roşii tratate cu tiroxină şi foliculină se constată precocitatea coacerii fructelor, creşterea numărului de fructe, creşterea greutăţii fructelor cu 33% şi unele modificări fizico-chimice (scăderea aciditătii, a conţinutului în substanţe proteice şi în vitamina C etc.).

D. Cotariu

676. ALEXA GH., SIRETEANU L., BURGHELEA GH. şi CHIRIŢĂ A., *Asupra factorilor care influenţează componentele chimice ale cojii de gorun* (Quercus, seria Sessiliflorae) *II.* Studii şi cercet. chim., Iaşi, 1958, **IX**, *1*, 93—104.

Conţinutul în tanin şi netanin este în funcţie de vîrsta arborelui, de regiunea de explorari şi, în cadrul aceleiaşi regiuni, în funcţie de expunerea la soare. Coaja de vîrstă înaintată conţine o cantitate mare de tanin. În regiunea Podişului Moldovei, coaja provenită de la arborii de pe versanţii sud-estici este mai bogată în substanţe tanante decît coaja provenită de la arborii de pe versanţii nord-vestici.

A. Balcu

677. MUREȘANU P. L. și CZEISLER G. H., *Contribuții la cunoașterea furajelor după natura aminoacizilor* (notă preliminară). Studii și cercet. chim., Timișoara, 1959, **VI**, *3—4*, 127—133.

S-a folosit metoda cromatografică de partiție și procedeul M. Werner și s-au pus în evidență în hidrolizatul acid de lungă durată (al fînurilor analizate) : lizina, histidina, acidul aspartic, asparagina, valina, metionina, glicocolul, serina, acidul glutamic, alanina, prolina și tirozina ; în hidrolizatul acid de scurtă durată s-au identificat cisteina și cistina, iar în hidrolizatul alcalin triptofanul. În continuare, autorii și-au propus să cerceteze natura și raportul aminoacizilor din furaje.

N. Luță-Moldoveanu

678. SĂNDULESCU R. și ILLE C., *Rolul rădăcinii de tutun în formarea nicotinei.* Lucr. șt. I.C.A., 1959, **IV**, 199—202.

Prin altoirea plantelor de tutun pe tomate și cartofi s-a arătat că factorul important în formarea nicotinei este sistemul radicular, de unde prin intermediul sevei nicotina migrează în frunze. Plantele de tutun altoite pe tomate și cartofi pierd însușirea de a sintetiza și acumula nicotina, pe cînd la plantele de tomate și cartofi, care inițial nu conțin nicotină, aceasta apare în frunze prin altoirea lor pe rădăcină de tutun. În momentul cînd plantele își recapătă rădăcina proprie, situația redevine normală.

C. Focșa

679. MORUJU GH. și SLUȘANSCHI H., *Studiul corelației dintre procesele de creștere și de fructificare la pornirea în vegetație a cîtorva soiuri de măr și păr.* Lucr. șt. I.C.H.V., 1959, 317—327.

Pentru studierea decalajului dintre fenofazele de înflorire și înfrunzire, a efectului ordinei de succesiune a acestor fenofaze asupra productivității soiurilor și a cauzelor pentru care unele soiuri își pierd rodul în faza înfloritului și a legării fructelor, s-au făcut observații fenologice amănunțite, începînd din perioada de repaos pînă la legatul fructelor și s-a determinat conținutul mugurilor de rod, al celor vegetativi și al florilor, în substanță uscată, azot total, fosfor și potasiu. S-a constatat că la soiurile productive înfloritul precede înfrunzitul, iar mugurii de rod sînt mai bine aprovizionați cu elemente nutritive decît la soiurile la care înfrunzitul precede înfloritul.

C. Săndulescu

680. TEODORESCU ȘT., ISTRATE N., POPA E., TARAS S., JURUBIȚĂ I., BRĂGUȚĂ GR., VODARICI C., RĂDULESCU G., BASAMAC C., BELU O. și LEPĂDATU V., *Evoluția conținutului în substanțe antocianice la strugurii negri, pe centre naturale de producție.* Lucr. șt. I.C.H.V., 1959, 429—439.

Pentru stabilirea dinamicii acumulării substanțelor colorante roșii în cursul procesului de maturare, ordonarea soiurilor după intensitatea lor colorantă, cunoașterea deosebirilor dintre centrele naturale de producție sub raportul intensității colorante a strugurilor și stabilirea datei optime de cules, s-au dozat substanțele colorante roșii din 10 în 10 zile, de la pîrgă pînă la cules și s-a urmărit procesul de maturare a strugurilor prin evoluția greutății boabelor, dozarea zaharurilor și a acidității totale, din 5 în 5 zile.

C. Săndulescu

IX. BIOCHIMIE ANIMALĂ

681. VAISLER L. şi COSTINER E., *Acţiunea protectoare a vitaminei C asupra funcţiei biogenetice a ficatului la animale cu hepatită toxică experimentală.* Studii şi cercet. endocrinol., 1959, **X**, *3*, 319—322.

La animalele cu hepatită toxică experimentală, prin CCl_4 se constată o scădere maximă a secreţiei biliare, efect anulat prin administrarea concomitentă a vitaminei C.

D. Cotariu

682. LUPULESCU A., VRĂBIESCU AL. şi POPOVICI D., *Acţiunea epifizhormonului şi a estrogenilor asupra arteriosclerozei şi hipertensiunii arteriale experimentale.* Studii şi cercet. endocrinol., 1959, **X**, *3*, 323—338.

Prin administrare de hormon adrenocorticotrop (ACTH) sau acetat de desoxicorticosteronă (DOCA) în doze mari, la şobolani femele, se produce arterioscleroză cu hipertensiune arterială, hipertrofie cardiacă etc. Administrarea concomitentă de epifizhormon produce în ambele cazuri ameliorarea evoluţiei hipertensiunii. În cazul ACTH-ului estrogenele reduc şi mai mult hipertensiunea arterială.

D. Cotariu

683. MILCU ŞT. -M., POP A., LUPULESCU A., ANGELESCU E., DAMIAN AL. şi ŢAGA M., *Cercetări experimentale şi clinice asupra unor procese autoimunologice antitiroidiene.* Studii şi cercet. endocrinol., 1959, **X**, *3*, 339—345.

Sîngele iepurilor adulţi masculi conţine anticorpi precipitanţi şi fixatori de complement după 30—75 zile de la inocularea antigenului (tiroidă tratată cu soluţie adjuvantă Freund). Tiroida animalelor prezintă modificări de structură importante. Sîngele bolnavilor de diferite forme de tireopatii (mixedem, boala lui Basedow, tiroidită etc.) conţine de asemenea anticorpi tiroidieni. Aceste fapte pledează pentru existenţa unui proces de imunitate specifică la organ, la bolnavii cu tireopatii.

D. Cotariu

684. CHIOSA L., SCÎRLETE T., HĂULICĂ I., BĂDESCU A. şi DOBRE V., *Proprietăţile farmacologice ale unei oxime : clorura de fenacil-oxim piridinium. Nota I. Acţiunea cardiovasculară.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 321—334.

Produsul provoacă o creştere a presiunii arteriale, are o acţiune de tip ganglioplegic, favorizează efectele presoare ale adrenalinei la animalul intact şi la cel suprarenalectomizat, diminuează hipotensiunea izopropil-adrenalinică şi restabileşte efectele presoare ale adrenalinei la animalul yohimbinizat. Drogul poate avea proprietăţi de detoxifiere polivalentă.

H. D. Schell

685. SIMIONESCU-CARAPANCEA S., SUHACIU GH. şi MÜLLER-BARTEL R., *Acţiunea farmacodinamică nespecifică a clorpromazinei la nivelul ţesutului cromafin al glandei medulosuprarenale.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 345—358.

Indiferent de calea de administrare: intraaortică, intravenoasă sau suboccipitală, produsul studiat diminuează sau împiedică, proporţional cu doza, secreţia de adrenalină şi l-noradrenalină. Produsul se comportă deci din punct de vedere al acţiunii farmacodinamice nespecifice, ca o substanţă frenatoare la nivelul sistemului neuro-adrenergic.

H. D. Schell

686. STERESCU N., *Creşterea excitabilităţii centrilor vasomotori sub acţiunea hormonului tireotrop hipofizar.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 359—363.

Cercetările efectuate în experiment acut pe 18 pisici de ambele sexe, arată că hormonul tireotrop administrat intravenos determină, inconstant după 5—10 min şi constant după 15—25 min, o creştere progresivă a răspunsurilor tensionale reflexe, cu punct de plecare din chemoreceptorii intestinali. Se discută mecanismul de producere al acestor modificări şi se opinează pentru o acţiune indirectă, ţinînd de stimularea secreţiei de hormoni tiroidieni.

H. D. Schell

687. STANCU A. şi STERESCU N., *Modificări fazice ale excitabilităţii vagale şi ale structurilor efectoare în cursul hipoglicemiei insulinice. Nota II.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 371—375.

Din rezultatele cercetărilor efectuate în experiment acut pe 22 cîini, autorii ajung la concluzia că în cursul hipoglicemiei insulinice au loc modificări fazice ale excitabilităţii vagale şi ale structurilor efectoare, de asemenea observă foarte frecvent pe fondul hipoglicemic răspunsuri paradoxale la excitarea electrică a capătului periferic al vagului, în sensul că excitanţii slabi determină o hipotensiune mai pronunţată decît excitanţii puternici.

H. D. Schell

688. CARAPANCEA M. şi SIMIONESCU-CARAPANCEA S., *Mecanismul dinamic al musculaturilor: perioculară, arteriolară-retiniană şi iriană, studiat prin metode de farmacodinamie nespecifică. Comunicarea a V-a: Cercetări asupra dinamicii acestor musculaturi prin acţiunea substanţelor: stricnina, ezerina, atropina, pilocarpina, benzedrina şi adrenalina, faţă de midriază stabilă de origine centrală, provocată de soluţia cloruro-sodică izotonică la temperatura animalului, injectată subdural.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 377—383.

Midriaza centrală, stabilă, nu mai poate fi depăşită de vreo altă midriază centrală, fugace, provocată de către mioticul, midriaticul sau stricnina injectate subdural sau vreo altă midriază periferică, stabilă, provocată de către midriaticul instilat. Midriaza centrală, stabilă, poate fi modificată de mioza periferică stabilă provocată de către mioticul instilat, stare reversibilă ulterior în midriază centrală, fugace, provocată de către mioticul, midriaticul sau stricnina injectate subdural sau în midriază periferică, stabilă, provocată de către midriaticul instilat.

H. D. Schell

689. HĂULICĂ I., POPA A., HĂULICĂ A., BĂDESCU A. şi OZUN R., *Aspecte metabolice şi funcţionale ale eliberării de catecholamine prin reserpină.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 409—420.

Din experienţele efectuate pe şobolani rezultă că reserpina inhibă ATP-aza şi măreşte conţinutul în ATP al creierului şi glandelor suprarenale. Acţiunile farmacologice ale reserpinei se produc prin mecanismul atît al eliberării exagerate de catecholamine, cît şi al afectării mediaţiei colinergice, ca urmare a perturbării metabolice.

H. D. Schell

690. NEGRU T. D. şi COSTIN A., *Cercetări experimentale cu privire la acţiunea clorpromazinei asupra hemogramei.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *3*, 421—426.

Clorpromazina administrată la 14 animale (344 experienţe) provoacă o scădere marcată a numărului de eosinofile, o scădere uşoară a numărului de granulocite şi o creştere marcată a numărului de limfocite. Splenectomia şi suprarenalectomia nu modifică efectul drogului. Produsul împiedică apariţia leucocitozei digestive, precum şi a celei provocate prin bulion-vaccin polimicrobian.

H. D. Schell

691. SIMIONESCU-CARAPANCEA S., SUHACIU GH. şi MÜLLER-BARTEL R., *Cercetării privind acţiunea farmacodinamică a pentametoniului (Penthonium) asupra sistemului neuro-adrenergic.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 519—527.

Se studiază cu ajutorul metodei adrenalino-secreţiei (D. Danielopolu) şi prin alte procedee acţiunea farmacodinamică nespecifică a pentametoniului asupra reacţiei medulosuprarenalei, pe cîini anesteziaţi cu cloraloză. Rezultatele obţinute infirmă teoria acţiunii de blocare a acestui medicament, încadrat în grupul substanţelor neuroplegice, la nivelul medulosuprarenalei.

H. D. Schell

692. CÎRSTEA M. şi GRÜNSPAN M., *Cercetări asupra inactivării histaminei endogene de către plămînul de cîine.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 547—552.

Activitatea histaminică liberă a sîngelui, produsă prin injectarea curarei sau antigenului specific la cîine, nu scade printr-o singură trecere prin patul vascular pulmonar într-o măsură ce poate fi pusă în evidenţă prin tehnica dozării biologice. Plămînii nu trebuie deci consideraţi, cel puţin la cîine, ca organe ce contribuie într-o măsură semnificativă în procesul de depurăţie rapidă a histaminei de origine endogenă.

H. D. Schell

693. RĂŞCANU V., ROTARU C., BRĂTEANU A. şi BATCU A., *Contribuţiuni la studiul modificărilor morfologice şi fizico-chimice ale sîngelui sub acţiunea decorticării mono- şi bilaterale.* Studii şi cercet. med., Iaşi, 1959, **X**, *1*, 31—40.

După decorticare se constată tulburări homeostazice şi morfologice ale sîngelui ce se accentuează după a doua decorticare. Conductibilitatea electrică creşte, tensiunea superficială este uşor crescută la unele animale iar în rest rămîne normală, densitatea creşte, viscozitatea este constantă. Colesterolul scade, ureea prezintă variaţii diferite, în cele mai multe cazuri ea scade, se constată acidoze, sodemia scade, iar potasiul creşte. Hematiile scad, iar concentraţia hemoglobinei creşte, leucocitele cresc la fel ca şi metamieloritele. Eozinofilele cresc inconstant. În puncţie sternală se constată că mieloblaştii cresc, mieloritele scad, metamieloritele cresc. Eritroblaştii bazofili scad, iar policromatofilele şi normoblaştii cresc. Se confirmă astfel ipoteza reglării centrale a hematopoezei, emisă de Botkin şi susţinută prin lucrările moderne ale şcolii lui Bîcov.

A. Balcu

694. DOROGAN D. şi ROTARU C., *Corelaţia dintre excitabilitatea cronaxică a muşchilor antagonişti şi conţinutul lor în albumine hidrosolubile.* Studii şi cercet. med., Iaşi, 1959, **X**, *1*, 51—59.

Conţinutul total în albumine hidrosolubile determinat refractometric, este acelaşi pentru toţi muşchii agonişti şi antagonişti. Fracţiunile albuminelor hidrosolubile determinate prin electroforeza pe hîrtie sînt diferite în muşchii agonişti faţă de cei antagonişti: muşchii agonişti conţin o cantitate mai mare a fracţiunii B decît fracţiunile A şi C. Muşchii cu cronaxie mai mare conţin o cantitate mai mare de fracţiune B şi mai mică de fracţiune A şi C decît muşchii cu cronaxie scurtă.

A. Balcu

695. DOROGAN D., DRĂGAN P., BARAN T. şi CIUREA E., *Rolul formaţiei reticulate în excitabilitatea cronaxică şi echilibrul hidro-electrolitic al muşchilor antagonişti.* Studii şi cercet. med., Iaşi, 1959, **X**, *2*, 219—229.

Procesul de inhibiţie prin largactil a formaţiei reticulate produce modificări atît ale excitabilităţii cronaxice, cît şi ale conţinutului hidro-electrolitic al muşchilor antagonişti ai gambei şi antebraţului, atît la cîine cît şi la iepurele de casă. Cronaxiile muşchilor antagonişti se egalizează. La fel şi conţinutul în electroliţi al muşchilor antagonişti tinde spre egalizare. În urma inhibării formaţiei reticulate de către largactil, sîngele total al cîinelui devine primitor de potasiu şi calciu şi donator de sodiu şi magneziu, iar sîngele total al iepurelui de casă este primitor de sodiu şi calciu şi donator de potasiu şi magneziu faţă de muşchii antagonişti ai aceluiaşi animal.

A. Balcu

696. NIŢULESCU I., *Consideraţii critice cu privire la concepţia aniacinozică a pelagrei.* Studii şi cercet. med., Iaşi, 1959, **X**, *2*, 263—267.

Succesele obţinute prin tratamentul cu niacină în pelagră susţineau ipoteza unei etiologii aniacinozice a acestei maladii. Întrucît însă sindromul experimental realizat la animal şi chiar la om nu pare să reproducă caracteristicile pelagrei endemice, iar dozele terapeutice necesare sînt relativ mari, se presupune că acţiunea niacinei în pelagră nu e vitaminică, aşa încît etiopatogenia acestei maladii trebuie cercetată în continuare.

A. Balcu

697. POLL E., PAUL I. şi SASU V., *Controlul funcţiei suprarenale în urma administrării de ACTH, insulină, adrenalină şi pilocarpină. II. Variaţiile leucogramei şi glicemiei la cabaline şi corelaţia lor cu unele modificări morfologice ale glandelor suprarenale.* Lucr. şt. Inst. Agr. „N. Bălcescu", Bucureşti, 1960, 661—666.

Administrarea de ACTH produce la cabaline neutrofilie, limfopenie şi eozinopenie. Adrenalina, insulina şi pilocarpina nu produc modificări ale formulei leucocitare, nu influenţează secreţia corticosuprarenalei. ACTH-ul, cortizonul şi adrenalina produc hiperglicemie, insulina şi pilocarpina hipoglicemie. Nu există corelaţie între modificările glicemiei şi ale formulei leucocitare.

H. Filipescu

698. IONESCU G. şi STANCU D., *Acţiunea leucogenă a plantei Helleborus purpurascens.* Lucr. şt. Inst. Agr. „N. Bălcescu", Bucureşti, 1960, 689—694.

Decoctul de *Helleborus purpurascens*, injectat subcutan, produce o leucocitoză puternică la cal, bou, cîine şi porc. Valoarea leucogenă este superioară aceleia a esenţei de terebentină şi prezintă avantajul că nu comunică nici un miros cărnii.

H. Filipescu

699. BURUIANĂ L. M., HADARAG EL., VARACHIU N., ŞUŢEANU M. şi LOZINSCHI AL., *Modificări biochimice în efortul prelungit.* Lucr. şt. Inst. Agr. „N. Bălcescu", Bucureşti, 1960, 699—713.

S-au constatat următoarele modificări biochimice ale sîngelui la cai, în timpul efortului; proteinele totale cresc (3—25%), tirozina scade apreciabil (9—52%), triptofanul mai puţin (1—18%), cresc apreciabil fosforul mineral total (2—42%), calcemia (pînă la 63%) şi magneziul (2—87%). Raportul Ca/P oscilează neregulat, raportul Mg/P rămîne însă neschimbat. Activitatea fosfatazei alcaline creşte pînă la 122%, iar conţinutul în caroteni pînă la 149%. Glucozamina scade mult, în timp ce acidul neuraminic prezintă o scădere uşoară.

H. Filipescu

700. BURUIANĂ L. M., HADARAG EL., ŞUŢEANU M., *Variaţia unor aminoacizi din proteinele serice la caii cu anemie infecţioasă.* Lucr. şt. Inst. Agr. „N. Bălcescu", Bucureşti, 1960, 717—724.

La animalele inoculate cu virusul anemiei infecţioase are loc o creştere a proteinelor totale şi a conţinutului în tirozină, precum şi o scădere a triptofanului.

H. Filipescu

701. BURUIANĂ L. M., HADARAG EL., DIACONESCU C. şi OŢEL V., *Importanţa conţinutului în fructoză şi a fructolizei pentru aprecierea calităţii spermei.* Probl. zoot., vet., 1960, *6*, 9—18.

Există o legătură directă între conţinutul în fructoză al spermei şi cantitatea aminoacizilor liberi. Spermatogeneza este deci legată de cantitatea de fructoză din spermă. O fructoliză prea rapidă sau una prea lentă indică o spermă de calitate inferioară. Aspectul fructolizei este acelaşi la tauri şi la ovine.

H. Filipescu

702. SPORN A., *Cercetări cu privire la toxicitatea aromatizantului cumarina.* Rev. igienă, 1960, *2*, 121—126.

Cumarina este un aromatizant toxic. Gradul său de nocivitate a fost urmărit în paralel cu cel al etilvanilinei, fiind pus în evidență prin toxicitate acută mărită la șoareci și prin deficiență în creșterea șobolanilor. Aceasta din urmă s-a datorit mai ales unei utilizări proteice scăzute. Din cauza toxicității ei, se recomandă interzicerea folosirii cumarinei în alimentație.

A. Popescu

703. UNGUREANU L., *Cercetări cu privire la conținutul în microelemente (Cu, Zn, Mn) al cărnii și ficatului de vită.* Rev. medico-chirurgic., Iași, 1959, **LXIII**, *2*, 375—380.

Dozările au fost făcute chimic și polarografic. În carne valorile obținute sînt cuprinse pentru Cu între 0,03—0,69 mg%; Zn = 2,48—3,33 mg%; Mn = 6,66—9,13 mg%; în ficat: Cu = 1,05—2,40 mg%; Zn = 6,66—10 mg%; Mn = 0,25—0,30 mg%. Diferențele între rezultatele obținute prin metoda polarografică și cele obținute prin metode chimice sînt foarte mici și pentru calculul statistic cu totul nesemnificative. Valorile obținute sînt în concordanță cu cele indicate în literatură.

A. Balcu

704. LASZLO R., *Date experimentale cu privire la variațiile K intracelular.* Timișoara medic., 1958, **III**, *3—4*, 319—321.

S-a urmărit paralelismul modificărilor dintre P din ATP și K, pe inimă de broască tratată cu strofantină și cu azotit de sodiu. Cantitatea de K s-a modificat în funcție de predominanța vitezei de utilizare sau de refacere a legăturilor macroergice fosfatice.

S. Mihăescu

705. DEUTSCH G. și DREICHLINGER O., *Variația eliminării 17-cetosteroizilor urinari, în cursul exicozei experimentale.* Timișoara medic., 1958, **III**, *3—4*, 329—331.

La iepuri, 17-cetosteroizii scad în urină după 24 ore de deshidratare prin suprimarea aportului hidric, revenind după 72 ore la valori normale.

S. Mihăescu

706. DRAGOMIR N. și MIHĂILESCU M., *Acțiunea clorpromazinei, hexametoniului și novocainei asupra permeabilității capilare.* Timișoara medic., 1958, **III**, *3—4*, 375—381.

Cele trei substanțe determină la iepuri și șobolani o creștere a permeabilității capilare, urmărită cu albastru de tripan. Asocierea vitaminei C micșorează efectul acestor substanțe.

S. Mihăescu

707. NIŢESCU I. I., VELEA ST., OZUN R. şi GIORGIU TH., *Hiperlactacidemia prin reflex condiţionat. Noi contribuţii la studiul corelaţiilor cortico-viscerale.* Spitalul, 1957, **LXX**, *4*, 379—380.

La câini, hiperlactacidemia apărută în urma instalării unui reflex condiţionat prin alergare pe bandă rulantă revine la valoarea normală după 6 zile de la suprimarea factorului excitant.

S. Mihăescu

708. VĂSCĂUŢEANU E., *Contribuţii la biochimia crapului crescut în acvarii şi în mediul natural.* An. şt. Univ., Iaşi, 1959, **V**, *1*, 175—183.

În decursul unui an, peştii ţinuţi în acvarium nu au crescut în lungime şi în greutate, clorurile au scăzut puţin, de asemenea calciul. În ceea ce priveşte fosforul, diferenţa este foarte mare între fosfatemia crapilor de acvariu şi fosfatemia crapilor din iaz, acest fapt având o influenţă hotărîtoare în creşterea şi dezvoltarea lor.

A. Balcu

X. BIOCHIMIE MEDICALĂ

709. BENETATO A., BUBUIANU E. şi ŞTEFĂNESCU E., *Variaţiile excreţiei urinare de amine simpaticomimetice libere la bolnavii de glaucom primitiv.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 467—475.

Creşterea excreţiei adrenalinei (A) şi creşterea mai puţin importantă a excreţiei de nor adrenalină (N) în glaucom primitiv sînt mai pronunţate la bolnavii operaţi faţă de cei neoperaţi Raţia A—N exprimată în procente, prezintă mari devieri de la valorile normale, în special la bolnavii operaţi. Aceste devieri sînt în concordanţă cu evoluţia postoperatorie a glaucomului: raţia A—N% la bolnavii cu evoluţia favorabilă postoperatorie creşte mult, în timp ce la bolnavii cu evoluţie nefavorabilă ea este mult scăzută. Rezultatele indică o participare a medulosuprarenalei la mecanismul de compensare a hipertensiunii oculare patologice.

H. D. Schell

710. CARAPANCEA M. şi SIMIONESCU-CARAPANCEA S., *Mecanismul dinamic al musculaturilor: perioculară, arteriolară-retiniană şi iriană, studiat prin metode de farmacodinamie nespecifică. Comunicarea VI. Ipoteză asupra dinamicii midriazei glaucomatoase. Sugestii asupra tratamentului cu miotice în glaucom.* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 553—558.

Se dă o ipoteză asupra dinamicii midriazei glaucomatoase precum şi indicaţii privitoare la tratamentul glaucomului cu miotice.

H. D. Schell

711. TEODORESCU-EXARCU I., IONESCU C. şi CLOPOTARU M., *Acţiunea sistemului nervos central asupra coagulării. Nota IV. Influenţa narcozei asupra timpului de generare a tromboplastinei (Proba Biggs-Douglas).* Studii şi cercet. fiziol., 1959, **IV**, *4*, 559—568.

Hipercoagulabilitatea narcotică s-ar datora în cea mai mare parte, dacă nu exclusiv, accelerării generării de tromboplastină.

H. D. Schell

712. GONŢEA I., ŞUŢESCU P. şi DUMITRACHE S., *Cercetări asupra nevoii de proteine a omului în muncă. III. Influenţa efortului la cald asupra bilanţului azotat.* Rev. igienă, 1960, *2*, 111—120.

Cercetarea bilanţului azotat la persoane care au depus acelaşi efort fizic la temperatura obişnuită (20 ± 2°C) şi la temperaturi mărite (35 ± 2°C) a arătat că munca la cald este însoţită de pierderi de azot şi de cheltuieli energetice mai mari decît la temperatura obişnuită. De aceea raţia de 1 g proteine/kilocorp, suficientă menţinerii echilibrului azotat în activitatea sedentară la temperatura obişnuită, trebuie majorată în cazul muncii depuse la temperaturi ridicate.

A. Popescu

713. MĂRCULESCU T., CHIPAIL A., TROSC V., CHIRIAC C. şi POPESCU F., *Consideraţiuni în jurul unor date biochimice ale sucului gastric la copilul normal. I. Δ şi clorul total în secreţie de repaos, secreţie post-histamină şi secreţie post-cafeină.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1958, **LXII**, *1*, 113—116.

Sucul gastric pe nemîncate sau provocat este net hipoton, datorită unor regiuni stomacale care desfăşoară o activitate de diluţie şi nu secreţiei salivare înghiţită. Nu s-au putut stabili relaţii între valorile osmotice şi volumetrice ale secreţiei şi vîrsta copilului.

A. Balcu

714. HURMUZACHE E., BĂRBUŢĂ R., TEODORESCU E., BURDEA M. şi HAIMOVICI M., *Valoarea indicaţiilor terapeutice ale ionogramei în toxicoza sugarului.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1958, **LXII**, *2*, 251—258.

Pentru cercetarea dezechilibrului hidric, în afară de măsurarea directă a apei, cea mai bună metodă este stabilirea ionogramei. La 2/3 din cazuri se constată hipoelectrolitemie cu hipoosmolaritate, iar la 1/4 din cazuri s-a găsit hiperelectrolitemie. Terapia cu seruri izotone dă rezultat numai în cazurile cu hiperelectrolitemie. Terapeutica trebuie să ia în seamă negreşit factorul etiologic.

A. Balcu

715. CREŢEANU GH., DRĂGAN M., LUNGU I., LUNGU E., RIEGLER B. şi HORENSTEIN M., *Cercetări biochimice în astmul bronşic.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1958, **LXII**, *2*, 287—292.

Se constată hiporiboflavinemie şi scăderea eliminării 17-cetosteroizilor. Starea clinică se ameliorează pe măsura normalizării fosforemiei şi riboflavinemiei.

A. Balcu

716. COSTEA V., CARNIOL M., TRANDAFIRESCU M. şi ŞERBAN F., *Dozarea 17-cetosteroizilor urinari în cîteva dermatoze.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1958, **LXII**, *4*, 753—756.

În psoriazis şi dermatoze alergice eliminarea este normală sau uşor scăzută, în discromie creşte, iar în restul de dermatoze diverse nu s-au constatat variaţii importante.

A. Balcu

717. ROTARU C. şi ŞTEFAN I., *Contribuţiuni la studiul electroforetic al tabloului seroprotidic în oboseală.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1959, **LXIII**, *1*, 91—98.

S-au determinat pierderile energetice şi tabloul seroprotidic în relaţie cu efortul (dozat la ergometru). În starea de oboseală se constată o creştere a proteinemiei totale, cu atît mai accentuată cu cît subiectul este mai neantrenat. Formula proteică este modificată în sensul hipoalbuminemiei şi hiper-alfa-2-globulinemiei.

A. Balcu

718. COTĂESCU I., DEUTSCH G., VLAD L. şi HOPÎRTEANU M., *Date experimentale cu privire la mecanismul metabolic al narcobiozei.* Timişoara medic., 1957, **II**, *2*, 231—237.

S-a cercetat pe inimă de broască acţiunea fiziologică şi metabolică — consumul de oxigen şi bilanţul fosforului legat macroergic — a largactilului, hexametoniului şi serpasilului, în comparaţie cu acţiunea antibioticelor. Cele trei substanţe narcobiotice, cît şi antibioticele produc o creştere a indicilor biochimici menţionaţi, avînd deci o acţiune metabolică antiasfixic aerobă. Datele fiziologice arată o inhibiţie a activităţii inimii.

S. Mihăescu

719. VANGHELOVICI M., HAMMER A. şi VINES V., *Contribuţiuni la studiul metabolismului glutationului în cancer.* Timişoara medic., 1957, **II**, *4*, 479—485.

Glutationul total prezintă valori normale, glutationul redus este scăzut, iar cel oxidat crescut. Aceste date sprijină ipoteza lui Bergholţ despre rolul grupărilor sulfhidril în declanşarea bolii canceroase.

S. Mihăescu

720. VANGHELOVICI M., LUPŞA I. şi BILEGAN C., *Perturbarea metabolismului acidului piruvic în boala canceroasă.* Timişoara medic., 1957, **II**, *5 — 6*, 629—634.

Se constată o creştere a acidului piruvic în sîngele canceros şi se leagă acest fapt de scăderea grupărilor sulfhidril în cancer, ceea ce ar indica o scădere a coenzimelor cu sulf necesare decarboxilării oxidative a acidului piruvic.

S. Mihăescu

721. BUŞILĂ V. T. şi DRAGOMIRESCU M., *Cercetarea funcţiei hepatice prin studiul catabolismului hormonilor steroizi; eliminarea spontană a 17-cetosteroizilor urinari, test biologic în hepatita epidemică.* Timişoara medic., 1958, **III**, *3—4*, 205—214.

Eliminarea 17-cetosteroizilor scade proporţional cu gravitatea bolii. Urmărită dinamic şi în corelaţie cu celelalte examene funcţionale hepatice, ea poate da indicaţii de evoluţie şi prognostic.

S. Mihăescu

722. CADARIU GH., URSONIU C., DANKNER A., CRIŞAN V., SELEŞ L. şi VLAD-GHEORGHIU L., *Cercetări asupra valorii comparative a unor teste biologice şi fiziologice utilizate în diagnosticul saturnismului profesional.* Timişoara medic., 1958, **III**, *3—4*, 301—311.

Coproporfirina, apariţia hematiilor cu granulaţii bazofile şi cronaxia extensorilor degetelor, urmărite la muncitori expuşi intoxicaţiei cu plumb, au prezentat modificări mai intense în primele luni de intoxicare. Coproporfirinuria este testul cel mai precoce şi cel mai constant.

S. Mihăescu

723. ALBU I. şi DIACONESCU N., *Contribuţiuni la studiul permeabilităţii capilare la gravide.* Timişoara medic., 1959, **IV**, *2*, 83—86.

Determinarea proteinelor sangvine, a hematocritului şi calcularea conform formulelor lui Landis arată o creştere a permeabilităţii capilare.

S. Mihăescu

XI. BIOCHIMIA NUTRIŢIEI

724. MARINESCU I., STERN S. şi DUMITRESCU H., *Valoarea alimentară a conservelor de fructe şi legume.* Lucr. şt. I.C.A., 1958, **II**, 131—134.

S-a stabilit valoarea energetică şi vitaminică a principalelor sortimente de conserve de fructe şi legume produse în R.P.R. Determinarea valorii energetice a fost făcută indirect, din analiza completă a produselor.

C. Focşa

725. DAN I. R. şi LAKATOS ŞT., *Cercetări cu privire la valoarea nutritivă a drojdiei furajere (Torulopsis utilis).* Lucr. şt. I.C.A., 1959, **III**, 169—177.

Se descriu experienţele de digestibilitate întreprinse pe porci, prin folosirea în hrană a drojdiei furajere. Se arată cantitatea de proteină digestibilă conţinută în drojdia furajeră şi sporul de proteină digestibilă pe care-l capătă raţia furajeră alcătuită din aceleaşi sortimente

furajere, conținînd însă în plus 5% drojdie furajeră. Îmbunătățirea digestibilității principiilor nutritive din rație se explică prin restabilirea echilibrului proteic și vitaminic pe socoteala drojdiei furajere.

C. Focșa

726. OBUHOVA D. A., *Experiențe pentru studiul alimentației cu hidrați de carbon a tineretului taurin.* An. rom.-sov., agric.-zoot., 1960, *1*, 157—171.

S-a făcut examenul biochimic al sîngelui, urinei și al conținutului rumenului la viței hrăniți după aceeași schemă de alimentație, cu deosebirea că la unul predomina amidonul, iar la celălalt zaharoza. Pentru scopuri practice pot fi considerați ca indici ai nivelului de alimentație cu hidrocarbonate : *a*) cantitatea de zahăr din rație la 1 kg greutate vie și *b*) raportul glucido-proteic al rației. La vîrsta de o lună, necesarul total de zahăr este acoperit de lactoza nutrețului lactat, în proporție de 100—95%, iar la vîrsta de 2—3 luni în proporție de 85—50%.

C. Săndulescu

XII. BIOCHIMIE TEHNICĂ

727. TOMA C. și MELEGHI E., *Conservarea granulelor de chefir prin congelare.* Lucr. șt. I.C.A., 1958, **II**, 227—233.

Granulele de chefir congelate la —18°C și păstrate la această temperatură pot fi reactivate după decongelare ; reactivarea are loc în condiții optime chiar după o conservare de 9 luni la — 18°C. Fermentarea lactică și alcoolică a granulelor de chefir decongelate redevine normală la 10—20 zile de la decongelare.

C. Focșa

XIII. FARMACOLOGIE. TOXICOLOGIE

728. OERIU S., MOGA V., BERTESCU L., BENESCH H., CRĂCEA M. și TEODORESCU O., *Cercetări în vederea obținerii de produse cu acțiune tuberculostatică. Nota II. Corelații între proprietățile chimice, fizico-chimice, structură și proprietățile biologice ale unor produse obținute din rășini de conifere.* Studii și cercetări de chimie, 1959, **VII**, *4*, 531—548.

Din rășinile de conifere (*Picea excelsa, Pinus montana, Picea polita, Pseudotsuga taxifolia*) s-au izolat acizi de tip abietinic, cu activitate bacteriostatică mai slabă pentru germenii gram-negativi, mai ridicată pentru cei gram-pozitivi și încă mai ridicată pentru B. K. Valorile variază cu anotimpul. Datele chimice (oxidare, ozonizare, izomerizare etc.) și biologice duc la concluzia că molecula fenantrenului, cu funcțiile organice, este baza activității biologice. Prin modificarea sistemului de duble legături (reducere, bromurare, oxidare, izomerizare) substanțele se inactivează. Participarea funcției acide este și ea necesară pentru activitatea biologică a acestor substanțe.

G. Grigorescu

INDICAȚII PENTRU AUTORI

În revista *Studii și cercetări de biochimie* se publică lucrări originale din orice domeniu al biochimiei. Lucrările trimise spre publicare nu trebuie să mai fi apărut în altă revistă. O dată acceptate, ele nu mai pot fi publicate în altă parte, fără consimțămîntul redacției.

Lucrările, redactate cît mai concis, se trimit redacției în trei exemplare dactilografiate (primul exemplar de la mașină și două copii), scrise pe coli normale, pe o singură față a colii, cu 31 rînduri pe o pagină și maximum 65 semne pe rînd. Înainte de trimitere, ele trebuie să ie revizuite cu grijă de autori, corectîndu-se toate erorile de dactilografiere. Se vor verifica îndeosebi: ortografia numelor proprii, corectitudinea citatelor, indicațiile bibliografice și datele numerice din text și din tabele.

Lucrările vor purta un titlu adecvat, numele autorilor și, pe ultima pagină a textului propriu-zis, numele instituției sau laboratorului unde s-au efectuat cercetările. Este recomandabil ca lucrările să fie împărțite în următoarele secțiuni: *a*) o parte introductivă, fără titlu; *b*) metoda de lucru; *c*) rezultate și discuții; *d*) concluzii; *e*) bibliografie; *f*) rezumat. Titlurile secțiunilor *b*—*d* vor fi însă omise în notele scurte, de 1—4 pagini dactilografiate.

În partea introductivă se vor preciza scopul lucrării și relațiile ei cu alte lucrări din același domeniu, alese dintre cele mai recente, fără a se face o întinsă trecere în revistă a literaturii.

Partea experimentală, deși concisă, trebuie expusă totuși atît de explicit încît să permită repetarea exactă a cercetărilor. Dacă s-au folosit metode publicate anterior, fără modificări esențiale, ele nu vor mai fi descrise, indicîndu-se numai bibliografia corespunzătoare.

Expunerea rezultatelor va fi însoțită, cînd este necesar, de tabele *sau* figuri. Nu se admit tabele și figuri care ilustrează aceleași rezultate.

Tabelele trebuie dactilografiate pe coli separate, iar locul lor aproximativ se va indica în textul lucrării. Ele se vor alcătui astfel încît pentru înțelegerea lor să nu fie necesară referirea la text. Fiecare tabelă va avea un titlu corespunzător, iar fiecare coloană va avea un cap de coloană, în care se arată limpede semnificația valorilor respective. Unitățile în care se exprimă rezultatele (ex. g/100 ml) se arată fie numai în titlu sau într-un subtitlu (care va putea cuprinde la nevoie și alte indicații), dacă sînt comune pentru întreaga tabelă, fie numai în capul coloanelor respective, dacă sînt diferite, fără a le repeta la fiecare rînd. Ele se vor scrie cu respectarea normelor adoptate în literatura științifică internațională (de ex. g și nu gr, l și nu ltr etc., totdeauna fără punct). Dacă pentru unele coloane sau date ale tabelelor sînt necesare observații speciale, acestea se vor consemna, cu trimitere, imediat sub tabele.

Se va evita prezentarea de date numeroase, esențialmente similare. În locul unor șiruri de date individuale de acest fel se va indica în tabele numărul datelor individuale, media lor și

deviația standard a distribuției (eventual și valorile limită ale distribuției). Dacă în text se afirmă că diferența dintre două valori medii înscrise în tabele este semnificativă, fără ca acest fapt să apară în mod evident, afirmația trebuie sprijinită neapărat pe testul de semnificație corespunzător.

Figurile se trimit într-un singur exemplar, pe foi de calc, în tuș. Literele și cifrele din figuri trebuie să fie îndeajuns de mari pentru ca să rămînă lizibile și după reducerea figurilor pînă la dimensiunile unui sfert sau unei jumătăți de pagină tipărită. Numărul figurilor va fi cît mai mic cu putință și ele vor fi alcătuite astfel ca să se evite risipa de spațiu : curbe ce pot fi înscrise într-un grafic comun nu se vor prezenta ca figuri separate, iar scările graficelor vor fi astfel alese încît figurile să nu fie prea alungite.

Fotografiile ce urmează a fi reproduse trebuie să fie perfect clare, făcute pe hîrtie albă, lucioasă.

Pe fiecare figură și fotografie se vor scrie citeț, pe margine sau pe vèrso, numele autorilor și numărul figurii, adăugîndu-se la nevoie și indicația *sus* ↑ sau ↓ *jos*.

Legendele explicative ale figurilor vor fi dactilografiate pe o foaie separată și redactate concis, clar și complet, astfel ca să nu fie necesară referirea la text.

Formulele chimice sau matematice se vor scrie în rîndurile obișnuite ale textului numai dacă sînt simple și se pot tipări pe un singur rînd tipografic. În cazul formulelor structurale, expresiilor matematice complicate, acestea se vor scrie între două rînduri ale textului, centrîndu-le. În acest din urmă fel se scriu și ecuațiile chimice. Nu se vor folosi formule în titlul lucrării, unde se admit numai simbolurile necesare pentru precizarea structurii compușiior marcați cu izotopi (ex. glicocol-2-C^{14}).

Discuția rezultatelor și concluziile trebuie să se refere numai la datele prezentate în lucrare.

Bibliografia se scrie pe foi separate, în ordinea alfabetică a numelui autorilor. Numai dacă lucrările citate sînt puțin numeroase, ele vor putea fi înscrise și în ordinea citării lor în text. În primul caz inițiala pronumelui se va scrie după numele autorului respectiv, în cel de-al doilea înaintea lui. Pentru articolele din reviste se indică : numele autorului, titlul articolului în limba respectivă, însoțit între paranteze de traducerea lui în cazul limbilor mai puțin cunoscute, titlul revistei în prescurtările de uz internațional (v. Referativnîi Jurnal, Chemisches Zentralblatt, Chemical Abstracts), tomul (t.) sau volumul (vol.), numărul (nr.), pagina (p.), anul apariției. De ex. : UNDERHAY E. E., *The hydrolysis of indoxyl esters by esterases of human blood*, Biochem. J., vol. 66, nr. 3, p. 383 (1957). Pentru cărți se indică : numele autorului, titlul cărții, editura, orașul unde a fost publicată, anul apariției, tomul sau volumul, pagina la care se trimite. În bibliografie nu vor figura decît lucrările pentru care există trimiteri în textul articolului.

Lucrarea trebuie să fie însoțită de un scurt rezumat pe foaie separată care urmează să fie tradus în limbi străine, prin grija editurii. El va cuprinde titlul lucrării și o foarte concisă prezentare a rezultatelor și concluziilor definitive ale lucrării. Detalii de metodă nu sînt necesare de obicei.

Pentru lucrarea apărută, autorul sau autorii primesc gratuit 50 de extrase.

LUCRĂRI APĂRUTE ÎN EDITURA ACADEMIEI R.P.R.

CHIMIE

I. REICHEL, **Chimia şi tehnologia coloranţilor azoici**, 354 p., 15,55 lei.
ALEXANDRU LUPU, **Contribuţii în domeniul compuşilor macromoleculari folosiţi în industria fibrelor chimice**, 96 p., 7 lei.
O. F. SOLOMON, **Despre teoria proceselor de polimerizare şi polimerizarea acetilenei**, 235 p., 10,75 lei.
I. DENES, **Despre mobilitatea atomilor de hidrogen ai grupelor metil în derivaţii 2-metil-benzoxazolului şi 2-metil-benzotiazolului**, 72 p., 2,75 lei.

ŞTIINŢE TEHNICE

E. CARAFOLI, **Aerodinamica vitezelor mari (fluide compresibile)**, 708 p., + 2 pl., 47 lei.
E. CARAFOLI, **Mecanica fluidelor**, 2 volume :
T. OROVEANU, vol. I, 276 p., 7 lei ;
vol. II, 412 p., 21,15 lei.
N. N. PATRAULEA, **Aerodinamica suprafeţelor permeabile**, 175 p., 16,25 lei.
N. TIPEI, **Hidro-aerodinamica lubrifiaţiei**, 696 p., 37 lei.
AL. MARINESCU, **Teoria elicopterului**, 268 p., 12,60 lei.
GH. CARTIANU, **Modulaţia de frecvenţă**, 451 p. + 5 pl., 31 lei.
C. I. PENESCU, **Automatica şi telemecanica sistemelor energetice**, vol. I, 787 p., 52,50 lei, vol. II, 576 p. + 50 pl., 35,70 lei.
CEZAR PARTENI ANTONI, ION S. ANTONIU, **Comportarea maşinilor electrice la unda de şoc**, 201 p., 12,50 lei.
ION S. ANTONIU, **Chestiuni speciale de electrotehnică**, 730 p., 27,10 lei.
D. BUIMOVICI, **Studiul cîtorva proprietăţi ale ligniţilor din R.P.R. şi ale semicocsului lor**, 112 p., 3,90 lei.
IGNAT SAPHIER, **Recuperarea pierderilor de căldură în industrie**, 108 p., 4,80 lei.
P. DIMO şi colab., **Tratarea neutrului reţelelor de înaltă tensiune pentru evitarea supratensiunilor prelungite**, 219 p., 9,85 lei.
R. J. BALLY, **Metode electrice de îmbunătăţire a pămînturilor în lucrările de construcţii**, 248 p. + 11 pl., 28,50 lei.
GHEORGHE RUSU, **Tehnica măsurătorilor în construcţiile masive**, 319 p. + 1 pl., 25,90 lei.

Pentru a vă asigura o colecție completă și primirea la timp a revistei, reînnoiți abonamentul dv. pentru anul 1961.

ABONAMENTELE SE FAC LA OFICIILE POȘTALE, AGENȚIILE POȘTALE, FACTORII POȘTALI ȘI DIFUZORII VOLUNTARI DIN ÎNTREPRINDERI ȘI INSTITUȚII.

Din

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

au apărut:

anul I, 1953, 4 n-re (a 5 lei);
anul II, 1959, 4 n-re (a 5 lei);
anul III, 1960, 3 n-re (a 5 lei).

Numerele se pot comanda, direct sau prin poştă, prin

LIBRĂRIA ACADEMIEI R. P. R.

Bucureşti, Calea Victoriei nr. 27.

Numerele curente se găsesc de vînzare la orice librărie ştiinţifică din ţară.

Abonamentele se fac la oficiile poştale, prin factorii poştali şi difuzorii voluntari din întreprinderi şi instituţii.

Pentru străinătate cererile de numere izolate sau de abonamente se fac prin întreprinderea de stat pentru comerţ exterior „Cartimex" I.S.C.E., str. Aristide Briand nr. 14, sau Căsuţa poştală 134—135, Bucureşti.

I. P. 2, c. 3636

Lei 5 –